

**Untersuchungen zur percutanen Wirkung,
Resorption und Ausscheidung von Zinkchlorid
im Rahmen der
chemochirurgischen Behandlung**

Anton Herbert Muschler

1975

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor: Prof.Dr.O.Braun-Falco

Untersuchungen zur percutanen Wirkung, Resorption
und Ausscheidung von Zinkchlorid im Rahmen der
chemochirurgischen Behandlung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maxi-
milians-Universität München



vorgelegt von
Anton Herbert Muschler
aus Freising
1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Prof. Dr.med. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.11.1975



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Die Chemochirurgie	1
1.2. Methode der Chemochirurgie	3
1.3. Lokale Wirkung der Zinkchlorid-Paste	4
1.4. Verbleib des Zink im Körper	5
2. METHODIK	7
2.1. Tiermaterial	7
2.2. Applikation der Zinkchlorid-Paste	7
2.2.1. Applikationsort und Applikationsfläche	8
2.2.2. Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierungszeit	9
2.3. Histologische Untersuchung der lokalen Wirkung	9
2.3.1. Herstellung der histologischen Präparate	10
2.3.2. Messung der Fixationstiefe	10
2.4. Untersuchung möglicher Ablagerungen vom Zink im Körper	12
2.5. Wirkung des Zinkchlorid auf das Blutbild	15
2.6. Statistik	16
2.7. Abkürzungen	17

	Seite
3. EIGENE ERGEBNISSE	18
3.1. Ergebnisse der Lokalwirkung der Zinkchlorid-Paste in Ab- hängigkeit von Applikations- dicke, Applikationszeit und Nachfixierungszeit	18
3.1.1. Ergebnisse der Messungen der Fixierungstiefe im Zentrum des fixierten Gewebes	19
3.1.2. Ergebnisse der Messungen des Fixationswinkels	25
3.1.3. Ergebnisse der Messungen der Fixationstiefe	33
3.1.4. Zusammenfassung der Meßergeb- nisse der Fixierungstiefe	41
3.2. Mikroskopische Untersuchung des fixierten Gewebes	44
3.3. Verbleib des Zink im Körper	45
3.3.1. Zinkgehalt im Haar	46
3.3.2. Zinkgehalt in der Haut	47
3.3.3. Zinkgehalt in der Leber	50
3.3.4. Zinkgehalt im Stuhl	52
3.3.5. Zinkgehalt in der Niere	54
3.3.6. Zinkgehalt im Harn	56
3.3.7. Zinkgehalt im Blut	60
3.4. Wirkung des Zink auf das Blutbild	62

	Seite
4. DISKUSSION	65
4.1. Chemochirurgische Behandlungsmethode	65
4.1.1. Verfahren der Chemochirurgie	67
4.2. Diskussion der eigenen Ergebnisse	69
4.2.1. Diskussion der Lokalwirkung der Zinkchlorid-Paste	69
4.2.2. Diskussion des Verbleibs des Zink im Körper	73
4.2.2.1. Verbleib des Zink im Haar	73
4.2.2.2. Verbleib des Zink in der Haut	74
4.2.2.3. Verbleib des Zink in der Leber	75
4.2.2.4. Verbleib des Zink im Stuhl	75
4.2.2.5. Verbleib des Zink in der Niere	75
4.2.2.6. Verbleib des Zink im Harn	76
4.2.2.7. Verbleib des Zink im Blut	77
4.2.3. Veränderungen im Blutbild	77
5. ZUSAMMENFASSUNG	80
LITERATURVERZEICHNIS	86
TABELLEN- und KURVENANHANG	

1. EINLEITUNG

Krebsvorsorgeuntersuchungen - Krebsforschung, zwei immer häufiger zu hörende Erfordernisse unserer Zeit. Obwohl bei diesen Begriffen jedermann zuerst an die Probleme von Tumoren innerer Organe denkt, können auch maligne epitheliale Hauttumoren Schwierigkeiten bei der Diagnostik und Therapie bereiten. Die betroffenen Patienten empfinden solche Veränderungen meist als besonders unangenehm, da sie sich zu etwa 80 % im Kopfbereich (4/9/5/6) manifestieren. Meist handelt es sich dabei um Basaliome, die - obwohl nicht zur Metastasenbildung neigend - durch ihr destruktives Wachstum das Leben des Patienten bedrohen können. Die wichtigsten Methoden zur Therapie der Basaliome und der Basaliomrezidive sind die Operation, die Exkochleation und die Röntgenbestrahlung (10/18/19/25/33). Eine Kombination von chirurgischem und chemischem Vorgehen stellt die von MOHS (21) entwickelte Chemochirurgie dar.

1.1. Die Chemochirurgie

Das Prinzip der chemochirurgischen Methode beruht auf einer Verätzung - bereits vor über 2000 Jahren in Ägypten und Indien bekannt (16) - respektive Fixierung des Gewebes mit Hilfe chemischer Substanzen, sowie einer anschließenden Excision und histologischen Untersuchung des fixierten Gewebes. Bereits im vorigen Jahrhundert, noch ehe die adstringierenden Eigenschaften des Zink bekannt waren,

versuchte man mit Ätzpasten verschiedener Zusammensetzung Tumoren zu behandeln. Eine dieser Pasten war die von HEBRA empfohlene Cosmesche Ätzpaste, deren Hauptbestandteile Arsenik und Zinnober waren.

Als erster verwendete um die Jahrhundertwende LANDOLFI unter Hinweis auf die kaustischen Eigenschaften des Zinkchlorid dieses bei der Behandlung von Hauttumoren. Während SCHREUS (34) die von LANDOLFI inaugurierte Zinkchlorid-Ätzung wiederentdeckte, untersuchten MOHS und GUYER (21) die Reaktion des Gewebes bei Behandlung mit Zinkchlorid. Sie stellten dabei fest, daß es bei einer lokalen Injektion einer 20%igen Zinkchlorid-Lösung neben einer starken leucocyitären Reaktion zu einer Fixierung des betreffenden Gewebes kam. Die histomorphologischen Strukturen waren in dem fixierten Bereich jedoch nicht zerstört. Die Fixierung des Gewebes unter Erhalt seiner histomorphologischen Strukturen mit Zinkchlorid veranlaßte MOHS weitere Überlegungen und Untersuchungen bei der Anwendung von Zinkchlorid anzustellen.

MOHS verbesserte die Behandlung mit Zinkchlorid und entwickelte die Methode der Chemochirurgie. Er excidierte das fixierte Gewebe und führte eine Untersuchung der Excisate in der Weise durch, daß in horizontaler Schnittführung histologische Schnitte von der Gewebsunterseite angefertigt werden, die es ermöglichen, die Ausdehnung des Tumors genau zu verfolgen. In der vollständigen Untersuchung des excidierten Gewebes liegt die Bedeutung dieses Behandlungsverfahren.

1.2. Methode der Chemochirurgie

Die chemochirurgische Behandlung erfolgt mit einer 40%igen Zinkchlorid-Paste mit Antimonsulfid als Trägermasse und Adulsion als Bindesubstanz.

Die Rezeptur dieser Paste lautet:

Rp: ZnCl_2 (satur.sol.)	34,5
Antimonsulfid	40,0
Adulsion	1,4

Die Behandlung wird immer in drei aufeinanderfolgenden Schritten durchgeführt, die so oft wiederholt werden, bis das Tumorgewebe histologisch nachweisbar vollständig entfernt ist:

1. Fixierung des Gewebes mit der Zinkchlorid-Paste
2. Excision des fixierten Gewebes
3. Histologische Untersuchung des fixierten Gewebes

ad 1: Vor Applikation der Zinkchlorid-Paste wird das zu fixierende Areal mit 100%iger Dichlor-essigsäure behandelt. Die resultierende Verätzung der Hornschicht - an einer milchigweisen Verfärbung erkennbar - ermöglicht das Eindringen der Fixierungspaste in die darunterliegenden Hautschichten. Applikationsdicke und Applikationszeit der Paste an den vorbehandelten Stellen richten sich nach der gewünschten Fixationstiefe (4/5/6/16).

ad 2: Der zweite Schritt besteht in einer stückweisen Excision des fixierten Gewebes. Die Excision einer etwa 2 mm starken Schicht fixierten Gewebes mit 5 - 10 mm Kantenlänge erfolgt mit dem Skalpell. Die excidierten Gewebestücke werden durch eine farbige Flan-

kenmarkierung so gekennzeichnet und auf einer Skizze wiedergegeben, daß eine Rückorientierung auf die Verhältnisse in situ möglich ist. Bei ungenügender Fixierung zur Tiefe oder nach den Seiten hin ist eine Wiederholung der Fixierung an den entsprechenden Stellen angezeigt (4/16). Die eventuelle Notwendigkeit einer erneuten Fixierung ergibt sich aus dem dritten Behandlungsabschnitt, der histologischen Untersuchung.

- ad 3: Zur histologischen Untersuchung, dem dritten Behandlungsschritt, werden von den excidierten Gewebstücken horizontale Kryostatschnitte von der Unterseite angefertigt. Nach der Färbung der Schnitte mit Hämalaun-Eosin erfolgt die mikroskopische Untersuchung. Positive, d.h. tumortragende Bezirke werden in einer topographischen Zeichnung entsprechend markiert. Anhand der Zeichnung werden die betreffenden Hautareale erneut mit Zinkchlorid-Paste fixiert und die drei Untersuchungsschritte sooft wiederholt bis auch diese Bezirke histologisch nachweisbar tumorfrei sind.

1.3. Lokale Wirkung der Zinkchlorid-Paste

Die empirisch bekannte, von mehreren Autoren (3/4/5/6) dargestellte Abhängigkeit der Fixationstiefe des Gewebes von der Applikationsdauer und Applikationsdicke der Zinkchlorid-Paste sollte im Tierversuch überprüft und gemessen werden. Um auf langdauernde, unangenehme Applikationszeiten (bis

24 Stunden) verzichten zu können, erschien es für die Klinik interessant, die unterschiedliche Wirkung zwischen einer langdauernden Applikationszeit und einer kürzeren Applikationsdauer mit anschließender Nachfixierung festzustellen.

Nach einer unterschiedlichen Applikationsdauer wird die Zinkchlorid-Paste gründlich von der Haut entfernt und der zu diesem Zeitpunkt in die Haut eingedungenen Zinkchlorid-Paste die Möglichkeit gegeben, weiter auf das Gewebe einzuwirken, indem das Versuchstier noch über mehrere Stunden am Leben gelassen wird; dieses Verfahren bezeichnen wir als Nachfixierung. Die Abhängigkeit der Fixations-tiefe zu kennen ist klinisch besonders in den Arealen wichtig, die kein oder nur ein geringes subcutanes Fettgewebe als Barriere haben. Schädigungen des Knorpelgewebes oder Knochengewebes - häufig im Nasenbereich und Ohrenbereich - sowie Schädigungen des Augapfels ziehen in der Regel irreparable Schäden nach sich. Klinisch interessant war weiter die Frage, ob eine Fixierung des Gewebes durch die Zinkchlorid-Paste über das mit Dichloraussigsäure präparierte Gebiet hinaus erkennbar ist.

1.4. Verbleib des Zink im Körper

Neben den von alters her bekannten kaustischen und adstringierenden lokalen Wirkungen des Zink erhob sich die Frage nach dem Verbleib des Zink im Körper: bleibt das Zink lokal in den fixierten Hautarealen liegen oder findet eine Resorption des Zink statt? Um diese Frage zu klären und die daraus folgenden

Probleme aufzuzeigen, wurden als mögliche Ausbreitungs- und Ausscheidungswege des Zink das Blut, der Stuhl, der Harn und als mögliche Ablagerungsstellen das Blut, die Haut, die den durch die Zinkchlorid-Paste gesetzten Hautdefekt deckende Narbe, die Haare, die Leber und die Niere untersucht. Um mögliche Zinkablagerungen festzustellen, sollten die entsprechenden Präparate von Tieren nach der Applikation der Paste (Versuchstiere) mit denen von Tieren ohne Behandlung (Normaltiere) auf ihren Zinkgehalt untersucht, dieser gemessen und die Meßergebnisse miteinander verglichen werden.

2. METHODIK

2.1. Tiermaterial

Die Versuche über die Lokal- bzw. Fernwirkung der Zinkchlorid-Paste wurden mit 81 weiblichen 500 g bzw. 1000 g schweren Inzucht-Albino-Meerschweinchen vom Stamm Pirbright white durchgeführt. Während der Versuchszeit erhielten die Tiere Futter (Altro-nin M Pellets) und Wasser ad libidum. Die Haltung der Versuchstiere erfolgte in Einzelhaltung bei einer Raumtemperatur von 20° Celsius.

Im Rahmen der Untersuchungen über die Lokalwirkung wurden 32 Tiere mit Zinkchlorid-Paste behandelt.

Zur Untersuchung der Fernwirkung wurden 49 Tiere mit Zinkchlorid-Paste behandelt.

2.2. Applikation der Zinkchlorid-Paste

Die Applikation der Zinkchlorid-Paste erfolgte in kleinen, aus einem Flexiglasstab mit 1,5 cm Durchmesser ausgedrehten Kunststofföpfchen. Der Durchmesser der Kavitäten betrug bei einer Tiefe von 0,5 mm, 1 mm, 1,5 mm und 2 mm jeweils 10 mm.

Die Kavitäten wurden zu den Versuchen eben mit der Paste gefüllt. Somit ergab sich eine applizierte Menge von 39,25 mm³, 78,5 mm³, 117,75 mm³ und 157 mm³ bei den unterschiedlichen Tiefen. Ein Bestreichen der Ränder der Kunststofföpfchen mit Vaseline sollte ein mögliches Auslaufen der Paste

verhindern. Eine glatte Rasur des Applikationsgebietes unterstützte dieses Betreiben.

Der zur Fixierung vorgesehene Bereich wurde nun mit 100%iger Dichloressigsäure bestrichen. Die daraus resultierende Verätzung der Hornschicht ermöglicht eine schnellere Penetration der Paste in das darunterliegende Gewebe.

2.2.1. Applikationsort und Applikationsfläche

Die Applikation der Paste erfolgte auf dem Rücken der Tiere im Bereich der Rippen caudal des Schulterblattes und cranial der 12. Rippe möglichst nahe und beiderseits der Brustwirbel. In diesem Bereich ist die Neigung der Töpfchen wegen der geringen Rippenkrümmung am geringsten und somit die Penetration auf der gesamten Applikationsfläche gleichmäßig. Bewegungen der Vorderpfoten und damit des Schulterblattes haben hier nur geringen Einfluß auf die Lage der Töpfchen. Die Töpfchen wurden mit einer strengen Brustbinde aus Leukoplast fixiert.

Die Applikationsfläche betrug in allen Fällen $78,5 \text{ mm}^2$ bei 1 cm Durchmesser. Das mit Dichloressigsäure vorbehandelte Areal wurde größer als 1 cm im Durchmesser gewählt, da eine genaue Deckung mit den Töpfchen nicht möglich und Verschiebungen beim Anlegen der Brustbinde unvermeidlich waren.

2.2.2. Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierungszeit

Die Variablen bei den Versuchen waren:

Applikationszeit der Zinkchlorid-Paste

Applikationsdicke der Zinkchlorid-Paste

Nachfixationszeit (= Einwirkungszeit des in die Haut eingedrungenen Zink über die Applikationszeit hinaus)

Die verschiedenen Applikationsdicken betrugen entsprechend der Tiefe der ausgedrehten Kavitäten 0,5 mm, 1 mm, 1,5 mm und 2 mm. Die maximale Applikationsdicke von 2 mm schien für die Versuche ausreichend (16), da sich die Literaturangabe (3/4) von einer Applikationsdicke bis zu 5 mm auf die Schichtdicke der mit Zinkchlorid-Paste bestrichenen Gazestreifen bezieht und nicht auf die tatsächlich applizierte Zinkchlorid-Pastendicke.

Als Applikationszeiten wurden - entsprechend dem praktisch-therapeutischen Vorgehen bei der Behandlung von Patienten - 0,5 Std., 1 Std., 2 Std. und 4 Std. gewählt.

Um den Einfluß einer Nachfixierungszeit festzustellen, wurde ein Teil der Versuchstiere noch 20, 48 bzw. 72 Std. nach sorgfältiger Entfernung der Paste am Leben gelassen und erst nach den entsprechenden Zeiten getötet und die Hautexcisionen vorgenommen.

2.3. Histologische Untersuchung der lokalen Wirkung

Die histologischen Untersuchungen der lokalen Wirkung erstreckten sich auf die möglichen Veränderun-

gen in der Gewebestruktur, die horizontale Ausdehnung der Nekrose, die Form des fixierten Gewebes sowie die Tiefe des fixierten Gewebes. Um histologische Veränderungen deutlich darzustellen, wurden je drei Präparate mit Hämalaun-Eosin, van Gieson und Elastika-Färbungen nach 2 Std. Applikationszeit und 2 Std. Applikationszeit mit 20stündiger Nachfixierung, sowie ein Präparat der normalen Haut angefertigt.

2.3.1. Herstellung der histologischen Präparate

Die histologischen Präparate wurden nach Tötung der Meerschweinchen durch Genickschlag angefertigt. Die Excision der behandelten Hautbezirke endete über der Rückenmuskulatur im subcutanen Fettgewebe. Eine tiefere Excision war nicht möglich, da die Muskulatur unter dem Fettgewebe nicht oder nur unwesentlich fixiert und zudem wegen der grossen Verschieblichkeit des lockeren Binde- und Fettgewebes der Subcutis den entsprechenden Hautbezirken nicht zuzuordnen war. Die halbierten oder geviertelten Präparate wurden in BOUIN'scher Lösung fixiert, die gewonnenen Paraffinschnitte mit Hämalaun-Eosin gefärbt und senkrecht zur Hautoberfläche geschnitten.

2.3.2. Messung der Fixationstiefe

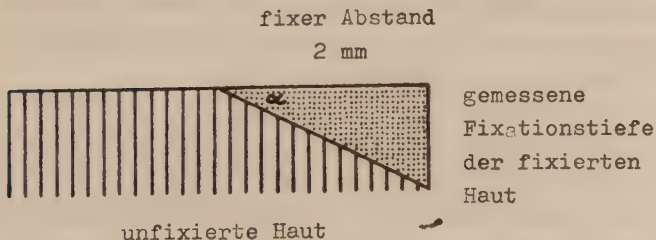
Die Ermittlung der Fixationstiefe erfolgte durch Messung der Dicke des fixierten Gewebes im Zentrum

des fixierten Areal. Hierzu wurden von dem Präparat Paraffinschnitte in vertikaler Schnittführung angefertigt und mit Hämalaun-Eosin gefärbt. Mit Hilfe einer Mikrometereinteilung am Ocular wurde die Fixationsdicke bei einer Vergrößerung von 2,5 mal in Millimetern ermittelt.

Um die Fixationstiefe unabhängig von den Messungen im Zentrum des fixierten Gebietes durchführen zu können - auf die Schwierigkeiten mit der Zuordnung der Muskulatur zum fixierten Areal durch das Bindegewebe und Fettgewebe der Subcutis wurde bereits verwiesen - wurde die Fixationstiefe als Tangensfunktion im Winkelmaß zusätzlich ausgedrückt. In einem horizontalen Abstand von 2 mm vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe wurde die Dicke des fixierten Gewebes ebenfalls mit der Mikrometereinteilung im Mikroskop bei 2,5 facher Vergrößerung gemessen. Das Verhältnis von der gemessenen Fixationstiefe zu dem fixen Abstand von 2 mm ergab die Tangensfunktion

$$\tan = \frac{\text{Gegenkathete}}{\text{Ankathete}} = \frac{\text{gemessene Tiefe}}{\text{Abstand 2 mm}}$$

Diesen Winkel bezeichnen wir als Fixationswinkel α



2.4. Untersuchung möglicher Ablagerungen von Zink im Körper⁺

Die Applikation der Zinkchlorid-Paste zur Untersuchung ihrer Fernwirkung erfolgte wie bei den Untersuchungen der lokalen Wirkungen (2.2.). Die Applikationszeit betrug bei allen Tieren 2 Stunden, die Applikationsdicke 1,5 mm und der Durchmesser der Applikationsfläche 10 mm. Appliziert wurde die Paste auf beiden Rückenhälften. Die Messungen des Zinkgehaltes der zu untersuchenden Präparate von Haut, Narbe, Leber, Niere, Haare und Blut erfolgte nach einer auf die Applikation folgenden sechswöchigen Haltungszeit der behandelten Tiere. Die Messungen der Zinkmengen im Harn erfolgten 4, 7 und 24 Std., die im Stuhl 24 Std. nach der Applikation der Zinkchlorid-Paste.

Um den Zinkgehalt der verschiedenen Präparate zu messen, boten sich zwei Möglichkeiten: Nachweis des Zink mit Hilfe der Dithizonmethode (11/20/31) oder mit Hilfe des flammenlosen Atom-Absorption-Spektrometers der Firma Perkin Elmer (24). Da die Nachweise mit dem Atom-Absorption-Spektrometer wesentlich genauer sind (1/13/28/30), erfolgten die Messungen mit dem Atom-Absorption-Spektrometer. Mit diesem ist ein Zinknachweis bis zu 10^{-13} g pro eingespritzter Probe möglich. Daher sind für die Messungen nur kleine Organmengen und entsprechende Verdünnungen der Präparate nötig.

⁺ Für die Überlassung des Atom-Absorption-Spektrometers zur Durchführung der Zinkmessungen möchte ich Herrn Prof. Dr. G. HAUCK aus dem Institut für Rechtsmedizin (Direktor: Prof. Dr. W. SPANN) der Universität München danken.

Für die Auswertung der vom Schreiber aufgezeichneten Ausschläge mußte eine Eichkurve in Vorversuchen experimentell erstellt werden. Als zu verwendendes Lösungsmittel für Zink eignete sich eine 1%ige Salzsäure, die sowohl zur Erstellung der Eichkurve als auch als Verdünnungsmittel für die organischen Lösungen verwendet werden konnte. Eine Überprüfung der Eichkurve auf ihre Anwendbarkeit auch für organische Lösungen wurde durchgeführt und erst dann mit den Messungen im Rahmen der Arbeit begonnen.

Die einzelnen zu untersuchenden Organproben wurden wie folgt hergestellt:

Blut: 10 μ l Vollblut in 200 μ l 25%iger HCL vollständig hämolysiert, mit 1%iger HCL ad 1:1000 verdünnt; davon jeweils 10 μ l in die Graphitrohrküvette pipettiert.

Haut, Narbe, Leber, Niere: aus den einzelnen Organen wurden Zylinder mit 3 mm Durchmesser ausgestanzt; davon Gefrierschnitte von 60 μ Dicke angefertigt, in 200 μ l 25%iger HCL vollständig gelöst, mit 1%iger HCL ad 1:1000 verdünnt, davon 10 μ l in die Küvette pipettiert.

Stuhl: 1 mm³ Stuhl in 200 μ l 25%iger HCL gelöst, mit 1%iger HCL ad 1:1000 verdünnt, davon je 10 μ l zur Messung einpipettiert.

Harn: 50 μ l Harn ad 1:1000 verdünnt mit 1%iger HCL, davon jeweils 10 μ l zur Messung in die Küvette pipettiert.

Zur Ermittlung des Zinkgehaltes wurden von jedem Organpräparat mindestens 5 Messungen vorgenommen. Von den zu untersuchenden Organen wurden die Präparate verschiedener Tiere verwendet und zwar:

Haare	2 Präparate vom Normaltier (=Tier ohne Behandlung)
	2 Präparate vom Versuchstier
Blut	3 Präparate vom Normaltier
	3 Präparate vom Versuchstier
Stuhl	4 Präparate vom Normaltier
	4 Präparate vom Versuchstier
Haut	3 Präparate vom Normaltier
	3 Präparate vom Versuchstier contralateral (=auf der spiegelbildlichen Seite des Rückens)
	3 Präparate von der Narbe des Versuchs- tieres
Leber	3 Präparate vom Normaltier
	3 Präparate vom Versuchstier
Niere	2 Präparate von der Nierenrinde des Normaltieres
	2 Präparate vom Nierenmark des Normal- tieres
	2 Präparate von der Nierenrinde des Versuchstieres
	2 Präparate vom Nierenmark des Versuchs- tieres
Harn	3 Präparate vom Normaltier
	9 Präparate vom Versuchstier

Die angegebenen Zinkmengen pro Präparat sind Mittelwerte aus mindestens 5 Messungen der Präparatlösungen. Die Mengenangabe für ein "Organ" soll am Beispiel der Haut dargestellt werden. Drei verschiedenen Hautpräparate ergeben bei je 5 Messungen insgesamt 15 Messungen. Der Mittelwert aus den 15 Messungen ist somit der Zinkgehalt der Haut.

Für jede Messung wurden $10\mu\text{l}$ der Präparatlösung in die Meßküvette eingespritzt (Meßprobe). Die angegebenen Zinkmengen sind ein Vielfaches von 10^{-12} g.

Die Daten des zu den Messungen verwendeten Atom-Absorption-Spektrometers der Fa. Perkin Elmer waren:

Lampe	15 mA
Schreiber	10 mV
Wellenlänge	214,5 nm
Spalt	7
Trockenzeit	30 sec
Trockentemperatur	35 Skalenteile ($\sim 100^{\circ}$)
Veraschungszeit	30 sec
Veraschungstemperatur	100 Skalenteile ($\sim 300^{\circ}$)
Atomisierungszeit	20 sec
Atomisierungstemperatur	500 Skalenteile ($\sim 1500^{\circ}$)
Ausglühzeit	10-20 sec
Ausglühtemperatur	890-990 Skalenteile ($\sim 2700^{\circ}$)

2.5. Wirkung des Zinkchlorid auf das Blutbild

Neben der Bestimmung des Zinkgehaltes des Blutes wurden noch Leukocytenzählungen in den ersten 24 Std. durchgeführt, sowie Blutbilder ausgezählt.

2.6. Statistik

Bei den Ergebnissen über die Lokalwirkung der Zinkchlorid-Paste erübrigten sich zur Beantwortung der Fragestellung statistische Signifikanzberechnungen.

Zur statistischen Auswertung der Meßergebnisse beim Zinknachweis wurden Histogramme für die einzelnen Präparate und Histogramme für die Mittelwerte erstellt sowie die Mittelwerte, Standardabweichungen und die Varianz berechnet. Zu entscheiden, ob die Unterschiede zwischen den Grundgesamtheiten (Gruppe Versuchstiere:Normaltiere) signifikant sind, wurde der F-Test durchgeführt.

Um die Mittelwerte der Grundgesamtheiten auf mögliche signifikante Unterschiede zu prüfen, wurde der t-Test durchgeführt:

$$1. \quad S_{xx'}^2 = \frac{\sum (x^2) - \bar{x} \sum (x) + \sum (x'^2) - \bar{x}' \sum (x')}{N + N' - 2}$$

$$2. \quad S_D = \sqrt{\frac{S_{xx'}^2}{N} + \frac{S_{xx'}^2}{N'}}$$

$$3. \quad t = \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{S_D}$$

$$FG = N + N' - 2$$

2.7. Abkürzungen

Appl. = Applikation

Appl.dicke = Applikationsdicke

Appl.zeit = Applikationszeit

Fix.tiefe = Fixationstiefe

Fix.winkel = Fixationswinkel = $y:x$

FG = Freiheitsgrad(e)

Nachfix. = Nachfixierungszeit

NT = Normaltier (Tier ohne Behandlung)

VT = Versuchstier

Präp. = Präparat

QS = Quadratsumme

s^2 = mittlere quadratische Abweichung

Sign. = Signifikanz

F = Varianzverhältnis

Skt = Skalenteile

x = horizontaler Abstand vom Übergang gesundes-
fixiertes Gewebe von 2 mm bei einer Vergrös-
serung von 2,5 mal

y = Tiefe des fixierten Gewebes im Abstand x bei
einer Vergrößerung von 2,5 mal

y abs. = absoluter Wert von y bei 2,5 facher Ver-
größerung

y rel. = relativer Wert von y zum jeweiligen Aus-
gangswert

3. EIGENE ERGEBNISSE

3.1. Ergebnisse der Lokalwirkung der Zinkchlorid-Paste in Abhängigkeit von Applikationsdicke, Applikationszeit und Nachfixierungszeit

Um die Abhängigkeit der Fixationstiefe aufzuzeigen, wurden 32 Tiere mit Zinkchlorid-Paste behandelt. Zur Bestimmung der Abhängigkeit dienten die folgenden Bedingungen:

Applikationsdicke 0,5 und 1 mm, 1,5 und 2 mm

Applikationszeit 0,5, 1, 2, 4 Std.

Nachfixierungszeit 0, 20, 48, 72 Std.

Die Messungen der Dicke des fixierten Gewebes erfolgte einmal im Zentrum des behandelten Areals; als zweites Maß für die Fixationstiefe diente die Tiefenmessung in einem bestimmten Abstand (2 mm bei 2,5 facher Vergrößerung) vom Übergang des gesunden zum fixierten Gewebe. Im letzteren Fall bot sich die Möglichkeit, das Ausmaß der Fixationstiefe im Winkelmaß auszudrücken, an. Bei dieser Art der Tiefenmessung kann man die Schwierigkeiten, die das lockere Binde- und Fettgewebe der Subcutis bei der Zuordnung der Präparatteile ober- und unterhalb dieser Schicht verursachen, ausschalten. Bestimmen ließ sich das Winkelmaß durch die Tangensfunktion: gemessene Tiefe y zum Abstand vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe y , ausgedrückt als Fixierungswinkel α .

fixer Abstand
2 mm



gemessene
Fixationstiefe
der fixierten
Haut

unfixierte Haut

3.1.1. Ergebnisse der Messungen der Fixierungstiefe (FT) im Zentrum des fixierten Gewebes

Die Ergebnisse, die sich aus den Abbildungen 1 - 10 ergeben, lassen sich in den Abbildungen 11 und 12 übersichtlich zusammenfassen. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen die Kurven, die sich bei den Applikationsdicken von 1 mm und 2 mm im Verlauf von 4 Std. ohne Nachfixierung ergaben.

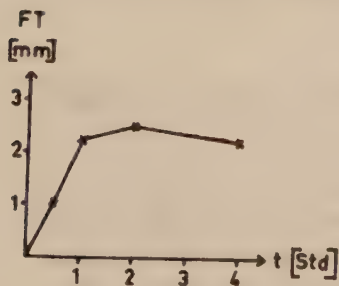


Abb. 1: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 1 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung. (Tab. 7)

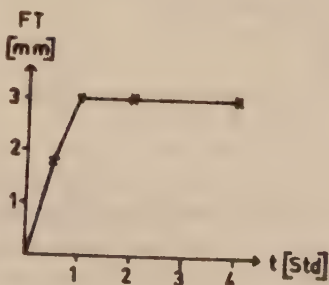


Abb. 2: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 2 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung. (Tab. 7)

Bemerkenswert ist der Anstieg der Fixationstiefe bis zu dem Zeitpunkt von 2 Stunden. Von da ab ist eine weitere Erhöhung der Fixierungstiefe nicht mehr zu erwarten. Der Anstieg der Kurve ist bei der Applikationsdicke von 2 mm steiler als bei 1 mm Applikationsdicke. Dieser steilere Anstieg ist durch den höheren Wert der erreichten Fixations-tiefe in der gleichen Zeit bedingt.

Einen Wegfall des anfänglichen Anstiegs der Kurve (zwischen 0,5 Std. Applikationszeit und 2 Std. Applikationszeit) konstatiert man (Abbildung 3 und 4) bereits bei einer Nachfixierungszeit von 20 Stunden.

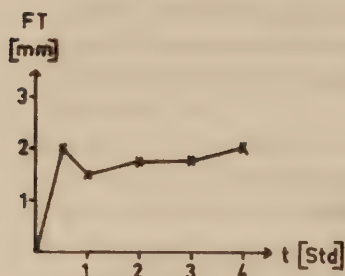


Abb. 3: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 1 mm Applikationsdicke und 20stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

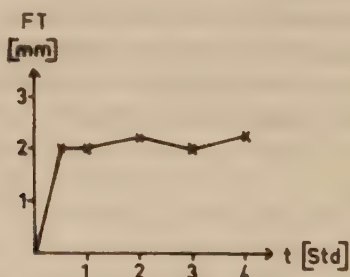


Abb. 4: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 2 mm Applikationsdicke und 20stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

Die Tendenz zu einer Plateaubildung in einer bestimmten Ordinatenhöhe, entsprechend der Fixations-tiefe, zeigen deutlich die Abbildungen 3 - 6

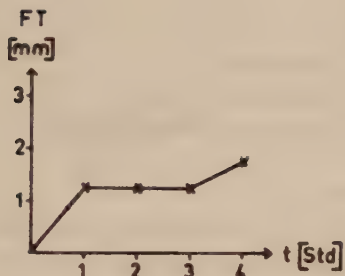


Abb. 5: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 0,5 mm Applikationsdicke und 20stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

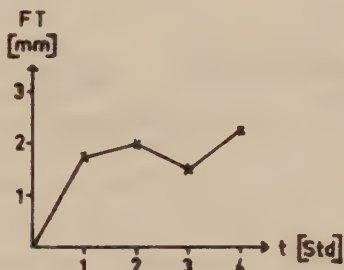


Abb. 6: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 1,5 mm Applikationsdicke und 20stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

Die unterschiedlichen Fixationstiefen sind wie diese Abbildungen zeigen, die Folge der unterschiedlichen Applikationsdicken. Diese Erkenntnis unterstützen auch die Abbildungen 7 - 10

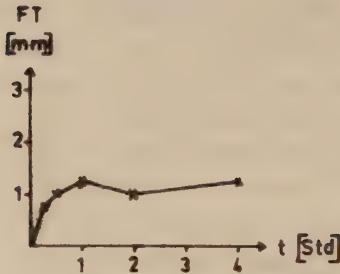


Abb. 7: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 1 mm Applikationsdicke und 72stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

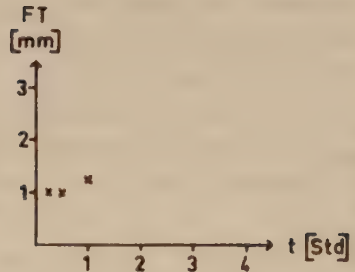


Abb. 8: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 1 mm Applikationsdicke und 48stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

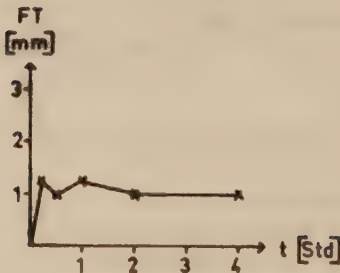


Abb. 9: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 2 mm Applikationsdicke und 72stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

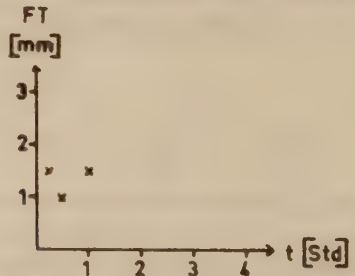


Abb. 10: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 2 mm Applikationsdicke und 48stündiger Nachfixierung. (Tab. 7)

Aus den direkten Vergleichen in den Abbildungen 11 und 12 ergeben sich folgende Schlüsse:

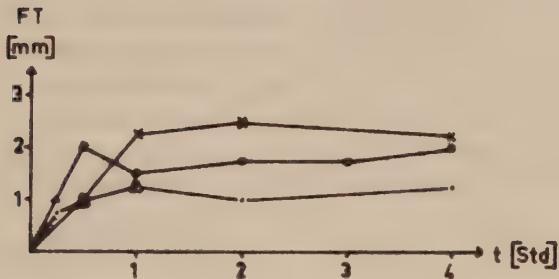


Abb. 11: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 1 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung (x) sowie 20- (o), 48- (Δ) und 72- stündiger (•) Nachfixierung (Tab. 7)

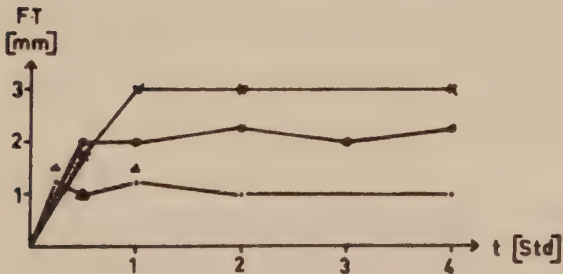


Abb. 12: Tiefe der fixierten Haut im Zentrum des Applikationsareals bei 2 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung (x) sowie 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. (Tab. 7)

Die Fixationstiefe ohne Nachfixierung hängt nur in den beiden ersten Zeitpunkten nach 0,5 bzw. 1 Std. Applikationszeit von der Applikationszeit und -dicke ab. Die dann erreichte und kaum mehr größer werdende Fixationstiefe ist in erster Linie von der Applikationsdicke der Zinkchlorid-Paste abhängig. Der in den ersten beiden Stunden beobachtete Unterschied der Fixationstiefe wird durch eine Nachfixierungszeit von 20 Std. bereits ausgeglichen. Diese Tatsache läßt sich auch nach 48 bzw. 72 Std. Nachfixierungszeit feststellen (Abbildung 3 - 6 bzw. 7 - 10)

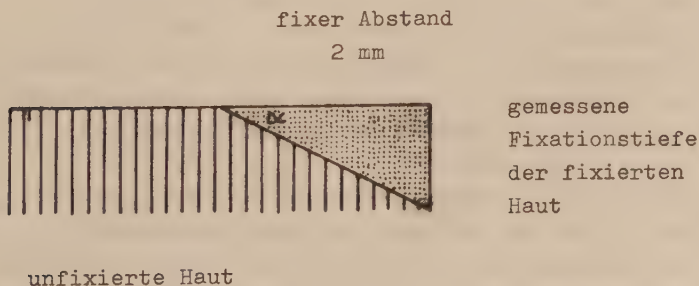
Den Zusammenhang zwischen Applikationsdicke und daraus resultierender Fixationsdicke zeigten die Abbildungen 1 - 12. Die Unterschiede in der Fixationstiefe bei 1 mm und 2 mm Applikationsdicke nehmen mit zunehmender Nachfixierungszeit ab.

Die zunächst überraschende Feststellung (Abbildung 11 und 12), daß die Meßwerte für die Fixationstiefe bei längerer Nachfixierung immer geringer werden, hat folgende Gründe: Die adstringierende Wirkung des Zinkchlorid erreicht in den Fällen ohne Nachfixierungszeit nur ein geringes Ausmaß. Mit zunehmender Dauer der Nachfixierung macht sich die zunehmende Schrumpfung des Gewebes bemerkbar. Dieser Schrumpfungsvorgang übertrifft die eventuelle weitere Tieferfixierung, da zum Einen die als Barriere wirkende Fettschicht der Subcutis erreicht wird - und zum Anderen eine weitere Tiefenwirkung des Zinkchlorid durch das bereits fixierte Gewebe, das als Barriere wirkt, verhindert wird. Aus diesem Grunde erreicht man entsprechend den Abbildungen 11

und 12 scheinbar die größte Fixationstiefe ohne Nachfixierung. Die Möglichkeit einer Tiefenfixierung über die dann erreichte Fixationstiefe hinaus läßt sich aber aus obigen Gründen, die in der Beurteilung der Abbildungen zu berücksichtigen sind, nicht ausschließen.

3.1.2. Ergebnisse der Messungen des Fixationswinkels (FW)

Um die Möglichkeit einer generellen Tieferfixierung über die obigen angegebenen Grenzen hinaus beantworten zu können, mußten die Begrenzungsfaktoren ausgeschaltet werden. Dies ist jedoch nur bei dem Faktor Fettgewebe möglich, da eine Penetration von Zinkchlorid durch das fixierte Gewebe nicht auszuschalten ist. Neben der direkten Messung der Fixierungstiefe im Zentrum des fixierten Gewebes wurde deshalb die Darstellung der Fixationstiefe noch als Tangensfunktion gemessen. Dieser Winkel wurde als Fixationswinkel α bezeichnet.



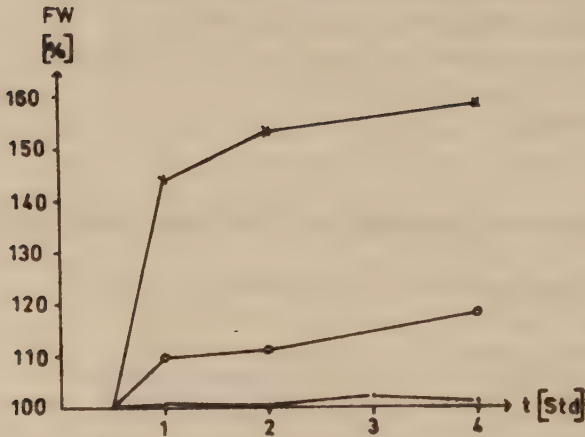


Abb. 13: Größe des Fixationswinkels (FW) bei 1 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung (x) sowie 20- (o) und 72stündiger (•) Nachfixierung. (Tab. 4)

Der Fixationswinkel bei 1 mm Applikationsdicke (Abbildung 13) zeigt ohne Nachfixierung bis zu 2 Stunden Applikationszeit einen steilen Anstieg von 100 % auf 152 % (der bei 0,5 Std. Applikationszeit gemessene Fixationswinkel wird jeweils als Basis 100 % angenommen) Von diesem Zeitpunkt an bis zu 4 Std. Applikationszeit steigt er nur noch um 6 % auf 158 %. Bei einer Nachfixierungszeit von 20 Std. (Basis 100 % ist der Winkel bei 0,5 Std. Applikationszeit und 20 Std. Nachfixierung) beobachtet man ebenfalls in den beiden ersten Stunden der

Applikationsdauer den größeren Anstieg der Fixierungstiefe von 100 % auf 111 %, während der Winkel in dem Zeitraum von 2 Std. bis 4 Std. nur mehr um 7 % zunimmt. Extrem gering, ja nahezu unverändert bleibt der Fixierungswinkel bei 72 Std. Nachfixierung.

(Basis 100 % ist 0,5 Std. Applikationszeit bei 72 Std. Nachfixierung). Der Winkel verändert sich fast unabhängig von der Applikationszeit um lediglich 2 %.

Die Fixierungswinkel bei einer Applikationsdicke von 2 mm werden durch die Abbildung 14 wiedergegeben.

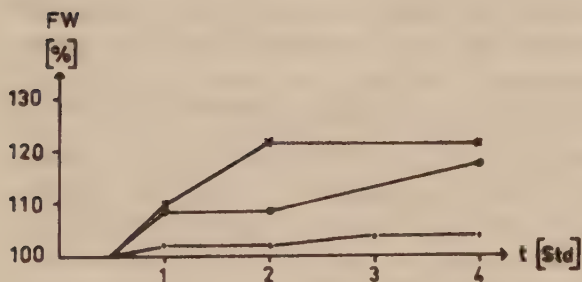


Abb. 14: Größe des Fixationswinkels (FW) bei 2 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung (x) sowie 20- (•) und 72stündiger (•) Nachfixierung. (Tab. 5)

Auch in diesem Falle steigt der Winkel ohne Nachfixierung in den beiden ersten Stunden der Applikationszeit stark von 100 % auf 121 %, um dann

bis zu einer Applikationszeit von 4 Stunden auf diesem Niveau zu verharren (Basis 100 % ist der Winkel bei 0,5 Stunden Applikationszeit ohne Nachfixierung). Bei einer Nachfixierungszeit von 20 Stunden (Basis 100 % ist der Winkel bei 0,5 Stunden Applikationszeit mit 20 Stunden Nachfixierung) steigt der Winkel im Verlauf der 4stündigen Applikationszeit von 100 % auf 117 %. Die Differenz zwischen dem Winkel nach 0,5 Stunden Applikationszeit und 4 Stunden Applikationszeit bei 72 Stunden Nachfixierung beträgt nur 2 %. (Basis 100 % ist der Winkel bei 0,5 Stunden Applikationszeit mit 72 Stunden Nachfixierung). Die grundsätzlichen Merkmale, daß der Fixationswinkel und damit die Fixationstiefe vor allem in den beiden ersten Stunden ansteigt und der Einfluß der Applikationszeit mit steigender Nachfixierungszeit abnimmt, sind also bei 1 mm Applikationsdicke und 2 mm Applikationsdicke gleich.

Um eine Relation für die Tiefenfixierung bei unterschiedlichen Nachfixierungszeiten gegenüber Werten ohne Nachfixierung zu erhalten, wurden die bei einer Applikationszeit von 0,5 Stunden ohne Nachfixierung gemessenen Winkelwerte für die Winkel bei 1 mm bzw. 2 mm Applikationsdicke als Basis 100 % gesetzt. Diese Basis diente in diesen Abbildungen als Bezugswert für die Meßwerte mit Nachfixierung. Die Abbildungen 15 und 16 geben die Ergebnisse wieder:

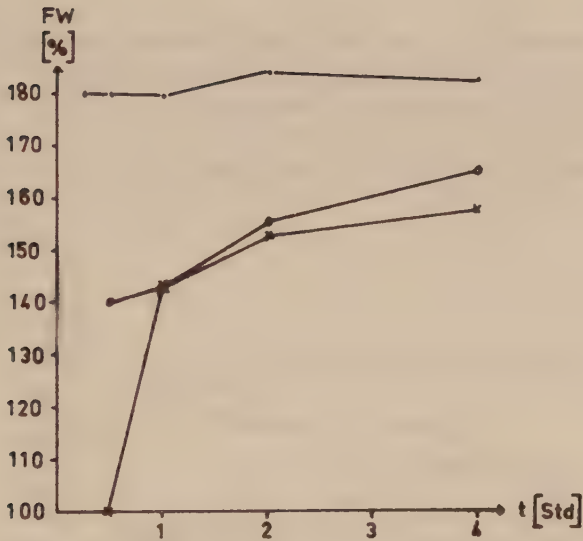


Abb. 15: Größe des Fixationswinkels (FW) bei 1 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung (×) sowie 20- (◐) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Der Fixationswinkel bei 0,5stündiger Applikationszeit ohne Nachfixierung dient als Basis 100 %. (Tab. 4)

Die Abbildung 15 - für 1 mm Applikationsdicke - zeigt bei einer Nachfixierung von 20 Stunden eine nur unwesentliche Vergrößerung des Fixierungswinkels (und damit der Fixierungstiefe) von maximal 7 % von 158 % auf 165 % gegenüber dem ohne Nachfixierung gemessenen Winkel. Der Unterschied bei 0,5stündiger Applikationszeit mit 20 Stunden Nachfixierung und ohne Nachfixierung ist allerdings mit 40 % deutlich. Die Werte für die Winkel nach 72 Std. Nachfixierung schwanken für alle Applikationszeiten um 180 %. Sie liegen damit deutlich

über dem maximalen Winkel ohne Nachfixierung und bei 20stündiger Nachfixierung, sind jedoch unabhängig von der Applikationszeit nahezu gleich. Auch die Abbildung 16 für eine Applikationsdicke von 2 mm zeigt die gleichen Gegebenheiten.

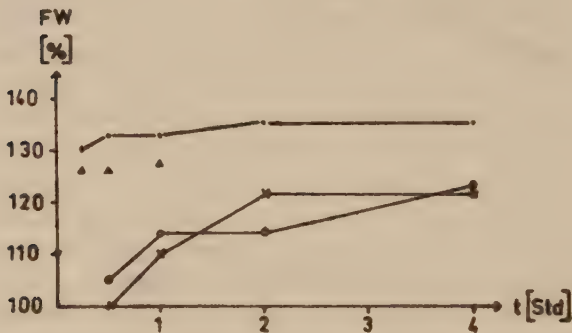


Abb. 16: Größe des Fixationswinkels (FW) bei 2 mm Applikationsdicke ohne Nachfixierung (x) sowie 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % ist der Fixationswinkel bei 0,5 Std. Applikationszeit ohne Nachfixierung. Sämtliche Werte sind zu diesem Basiswert in Relation gesetzt. (Tab. 5)

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind jedoch geringer. So beträgt der Unterschied zwischen den beiden Maximalwinkeln ohne Nachfixierung und 20stündiger Nachfixierung nur 2 %. Der maximale Fixationswinkel nach 4 Std. Applikationszeit mit 72stündiger Nachfixierung liegt ca. 14 % über dem ohne Nachfixierung (135 % gegenüber 121 %)

Einen Vergleich der Winkel bei 1 mm und 2 mm Applikationsdicke liefern die Werte, wenn sie mit dem Wert bei 1 mm Applikationsdicke und 0,5 Std. App-

likationszeit ohne Nachfixierung in Relation gesetzt. werden. Die Basis 100 % ist in diesem Falle für sämtliche Werte - unabhängig von der unterschiedlichen Applikationsdicke, Applikationszeit und Nachfixierungszeit - der Wert bei einer Applikationszeit von 0,5 Std. ohne Nachfixierung. Die daraus resultierenden Abbildungen 17 und 18 zeigen:

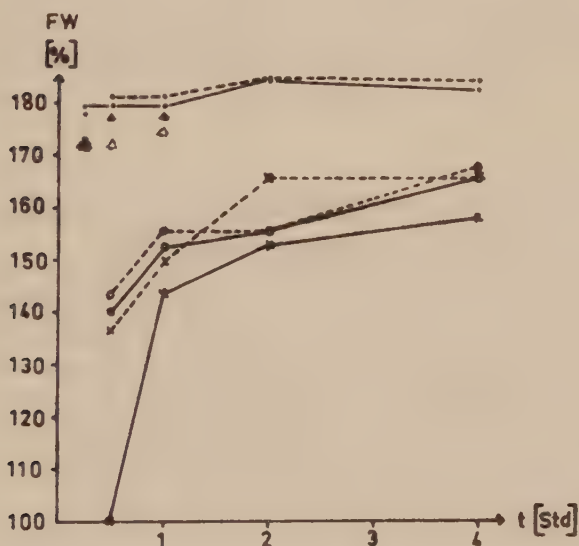


Abb. 17: Größe des Fixationswinkels (FW) bei 1 mm (—) und 2 mm Applikationsdicke (---) ohne Nachfixierung () sowie 20- (○), 48- (△) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % ist der Fixationswinkel bei 0,5 Std. Applikationszeit ohne Nachfixierung sowie 1 mm Applikationsdicke. Sämtliche Werte sind zu diesem Basiswert in Relation gesetzt. (Tab. 6)

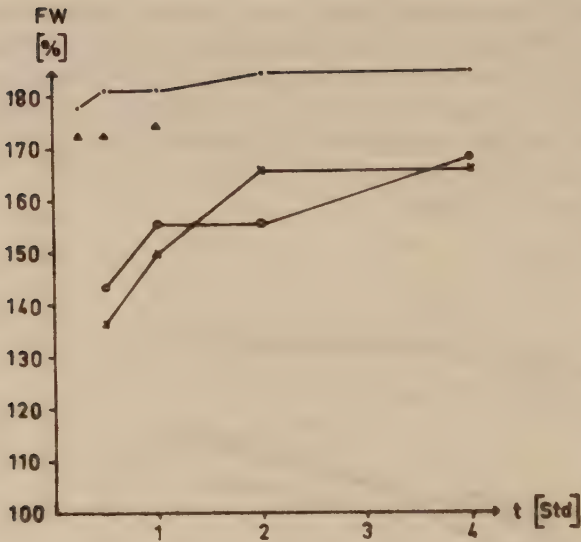


Abb. 18: Größe des Fixationswinkels (FW) bei 2 mm Applikationsdicke ohne (x), sowie 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % ist der Fixationswinkel bei 0,5stündiger Applikationszeit ohne Nachfixierung sowie 1 mm Applikationsdicke. Sämtliche Werte sind zu diesem Basiswert in Relation gesetzt. (Tab. 6)

Die Ergebnisse für 1 mm Applikationsdicke gelten in dieser Abbildung wie oben beschrieben. Wir stellen einen deutlich höheren Wert für den Fixationswinkel bei 2 mm Applikationsdicke und 0,5 Std. Applikationszeit fest, und zwar steigt dieser von 100 % auf 136 %. Die folgenden Werte mit zunehmender Applikationszeit ohne Nachfixierung liegen zwar nicht mehr in dem Ausmaß, aber doch deutlich

(7 % - 12 %) über denen bei 1 mm Applikationsdicke. Die Werte nach 20 Std. Nachfixierung unterscheiden sich für die beiden verschiedenen Applikationsdicken von 1 mm und 2 mm fast nicht. Die größten erreichten Fixierungswinkel bei 1 mm Applikationsdicke und 2 mm Applikationsdicke sowie jeweils 72 Std. Nachfixierung liegen in beiden Fällen um 180 %.

Dieses Diagramm zeigt also, daß mit zunehmender Nachfixierung der Faktor der Applikationsdicke an Gewicht verliert und die Nachfixierungszeit die entscheidende Größe wird.

3.1.3. Ergebniss~~e~~ der Messungen der Fixationstiefe (FT)

Der Vergleich der ermittelten y -Werte muß notwendigerweise als Zähler bei konstanten Nenner $\frac{y}{const.}$ die Ergebnisse der Fixierungswinkel bestätigen. Eine Gegenüberstellung der Abbildungen 13 - 19, 15 - 20, 14 - 21, 16 - 22, 17 - 23 belegt dies. Die Evidenz der Tatsachen - lediglich die Zahlenwerte zeigen naturgemäß Unterschiede - ist so deutlich, daß nur eine kurze Kurvenerläuterung erforderlich ist.

Die Messungen der Fixationstiefe y bei 1 mm Applikationsdicke (Abbildung 19) (die bei 0,5 Stunden Applikationszeit gemessene Fixationstiefe wird jeweils als Basis 100 % gesetzt) zeigen:

Die Fixationstiefe bei diesen Versuchen ohne Nachfixierung steigt in den beiden ersten Applikationsstunden am stärksten von 100 % auf 193 %, während in den beiden folgenden Stunden die Tiefe lediglich um weitere 14 % auf 207 % ansteigt. Auch bei 20- und 72stündiger Nachfixierung liegt die größere Wirkung der Paste in den beiden ersten Stunden:

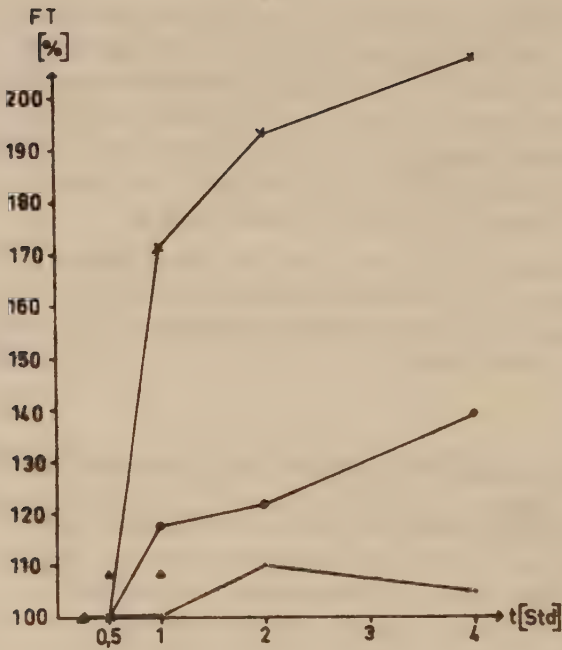


Abb. 19: y-Messungen (Fixationstiefe FT in 2 mm Abstand vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe) bei 1 mm Applikationsdicke ohne (x), sowie mit 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % sind die jeweiligen Werte nach 0,5 Std. Applikationszeit sowie 1 mm Applikationsdicke. (Tab. 8)

20 std. Nachfixierung: Anstieg der Fixationstiefe von 100 % auf 122 % in den beiden ersten Stunden um weitere 17 % auf 139 % in den beiden folgenden.

72 std. Nachfixierung: Anstieg der Fixationstiefe von 100 % auf 110 % mit folgendem, wahrscheinlich zufallsbedingtem Abfall auf 105 % der Ausgangstiefe nach 4 Stunden.

Die Meßergebnisse der Fixationstiefe bei einer Applikationsdicke von 2 mm zeigt die Abbildung 20:

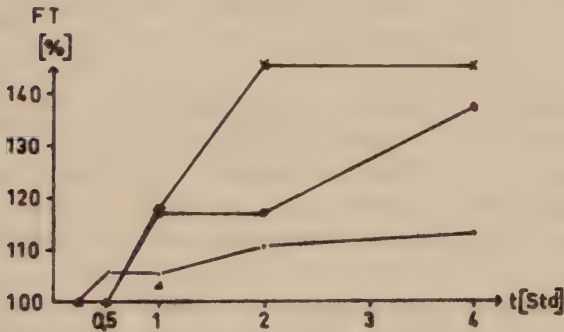


Abb. 20: y-Messungen (Fixationstiefe FT in 2 mm Abstand vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe) bei 1 mm Applikationsdicke ohne (x), sowie mit 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % sind die jeweiligen Meßwerte nach 0,5 Std. Applikationszeit sowie 2 mm Applikationsdicke. (Tab. 9)

Die Fixationstiefe steigt bei 2 mm Applikationsdicke in den beiden ersten Stunden ohne Nachfixierung von 100 % auf 145 %, um in den beiden folgenden Stunden auf diesem Niveau zu verweilen. Bei 20stündiger Nachfixierung ist der Anstieg der Fixationstiefe in den beiden ersten Stunden mit 17 % (von 100 % auf 117 %) nahezu gleich dem der beiden folgenden mit 20 % (von 117 % auf 137 %).

Bei 72stündiger Nachfixierung liegt die größere Wirkung der Paste wieder eindeutig in den beiden ersten Applikationsstunden: von 100 % auf 111 % nach 2 Stunden gegenüber einem Anstieg der Fixationstiefe von 111 % auf 113 % nach weiteren 2 Stunden.

Vergleicht man nun sämtliche Meßergebnisse der Fixationstiefe bei 1 mm Applikationsdicke mit den Messungen nach 0,5 Std. Applikationszeit ohne Nachfixierung - als Basis 100 % - so ergibt sich die Abbildung 21.

Die Verbindung der einzelnen Meßpunkte zeigt, daß der stärkere Effekt bezüglich der Tiefenfixierung bei 20stündiger Nachfixierung maximal lediglich 20 % (ausgenommen: 0,5 Std. Applikationszeit bei 20stündiger Nachfixierung) gegenüber dem ohne Nachfixierung beträgt. Die Wirkung der Zinkchlorid-Paste wird jedoch - und deshalb für die Klinik wohl unbrauchbar - bei 48 Std. bzw. 72 Std. Nachfixierung erheblich größer. Sie steigt z.B. auf einen Wert von 280 % d.h. eine 72stündige Nachfixierung bewirkt z.B. bei 0,5 Std. Applikationszeit eine Erhöhung der Fixationstiefe auf fast das Dreifache.

Abb. 21 siehe Seite 37:

Legende zu Abb. 21:

y-Messungen (Fixationstiefe FT in 2 mm Abstand vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe) bei 1 mm Applikationsdicke ohne (x), sowie mit 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % ist der y-Wert bei 0,5stündiger Applikationszeit ohne Nachfixierung sowie 1 mm Applikationsdicke. Sämtliche Werte sind zu diesem Basiswert in Relation gesetzt. (Tab. 10 und 11)

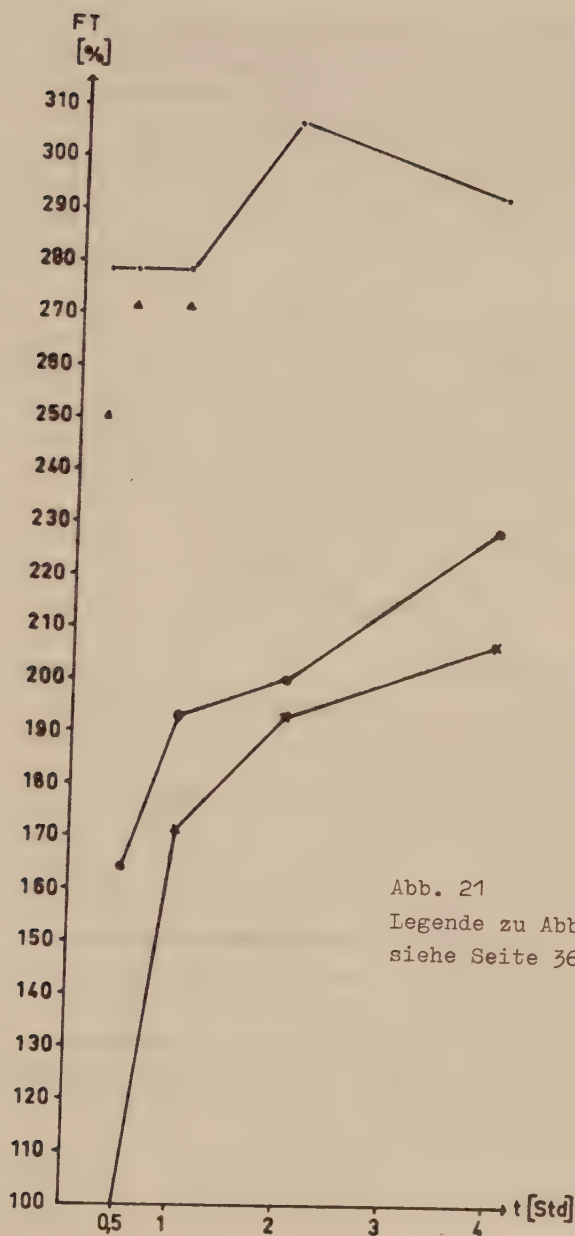


Abb. 21

Legende zu Abb. 21

siehe Seite 36

Die Abbildung 22 zeigt die Ergebnisse bei einer Applikationsdicke von 2 mm. Als Vergleichswert für sämtliche Messungen bei 2 mm Applikationsdicke wurde ebenfalls der Wert bei einer Applikationszeit von 0,5 Stunden gewählt.

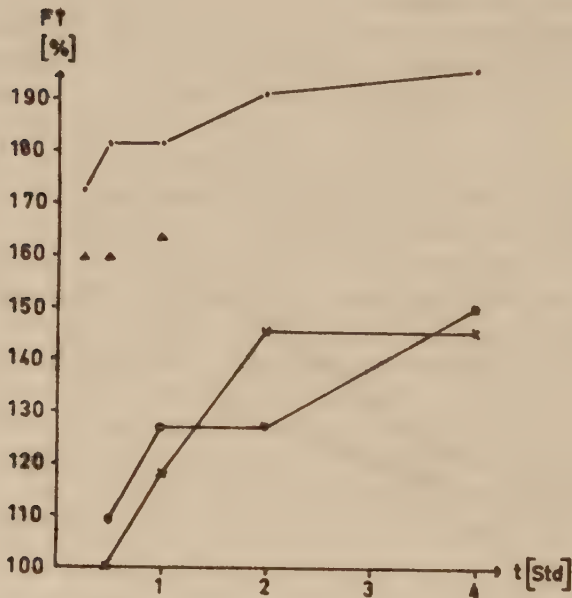


Abb. 22: y-Messungen (Fixationstiefe FT in 2 mm Abstand vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe) bei 2 mm Applikationsdicke ohne (x), sowie 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % ist der y-Wert bei 0,5stündiger Applikationszeit ohne Nachfixierung sowie 2 mm Applikationsdicke. Sämtliche Werte sind zu diesem Basiswert in Relation gesetzt. (Tab. 10)

Auch hier zeigen sich, wie bei den Ergebnissen für 1 mm Applikationsdicke zwischen den gemessenen Tiefen ohne Nachfixierung und nach 20 Stunden Nachfixierung nur geringe Unterschiede. Deutlich hingegen werden die Unterschiede und somit der größere Effekt der Paste bei Nachfixierungszeiten von 48 und 72 Stunden. Die stärkere Wirkung beträgt hier bis zu 82 %.

Setzt man nun, um die Ergebnisse von 1 mm und 2 mm Applikationsdicke in einer graphischen Darstellung zu erhalten, den Wert bei 1 mm Applikationsdicke und 0,5 Std. Applikationszeit als Basis 100 %, so ergibt sich die Abbildung 23.

Abb. 23 siehe Seite 40:

Legende zu Abb. 23:

y-Messungen (Fixationstiefe FT in 2 mm Abstand vom Übergang gesundes-fixiertes Gewebe) bei 1 mm (—) und 2 mm (---) Applikationsdicke ohne (x), sowie 20- (o), 48- (Δ) und 72stündiger (•) Nachfixierung. Basis 100 % ist der y-Wert bei 0,5stündiger Applikationszeit ohne Nachfixierung sowie 1 mm Applikationsdicke. Sämtliche Werte sind zu diesem Basiswert in Relation gesetzt. (Tab. 11)

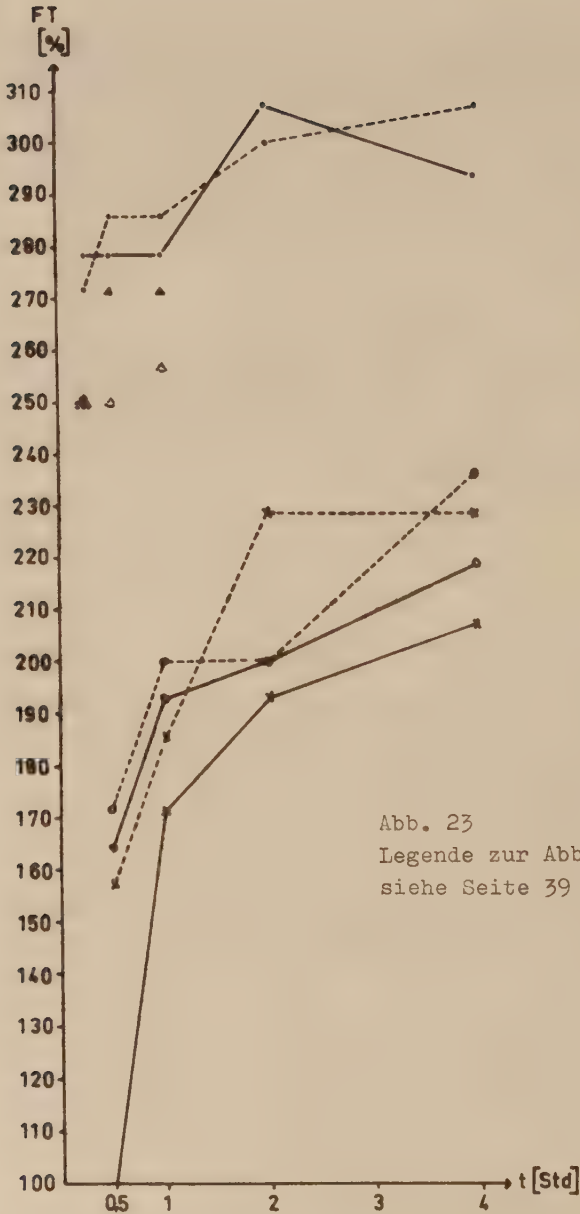


Abb. 23
Legende zur Abb. 23
siehe Seite 39

Während nun die Fixierungstiefen ohne Nachfixierungszeit bei einer Applikationsdicke von 2 mm stets über denen bei 1 mm Applikationsdicke liegen, ist dies mit zunehmender Nachfixierung nicht mehr der Fall. Während bei 20 Std. Nachfixierung noch gewisse Unterschiede zugunsten der Applikationsdicke von 2 mm vorhanden sind, kehren sie sich bei 72 Std. Nachfixierung sogar zum Teil ins Gegenteil um. Es liegen also die Werte für 1 mm Applikationsdicke über denen für 2 mm. Diese Feststellung ist aber sicher nur zufallsbedingt.

Diese Tatsachen zeigen aber, daß mit zunehmender Nachfixierung die Bedeutung der Applikationsdicke verschwindet, die der Applikationszeit abnimmt und die der Nachfixierung eindeutig überwiegt. Bei der Nachfixierung werden die für die Ergebnisse ohne Nachfixierung entscheidenden Faktoren Applikationsdicke und Applikationszeit eindeutig von dem Faktor Nachfixierung überwogen.

3.1.4. Zusammenfassung der Meßergebnisse der Fixierungstiefe

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse über die lokale Wirkung der Zinkchlorid-Paste ergibt: Die Fixierung über das mit Dichloressigsäure vorbehandelte Areal hinaus kann vernachlässigt werden, da die Penetration der Zinkchlorid-Paste durch die nicht vorbehandelte Hornschicht in den Versuchszeiträumen nicht zu beobachten war.

Die sich bereits in den Messungen der Fixierungstiefe im Zentrum des Defektes abzeichnende Tendenz der Kurven zu einem asymptotischen Wert kann durch

die Messungen der Fixierungswinkel und der Werte für die Fixationstiefe y bestätigt werden.

Während die Meßwerte der Fixierungstiefe im Zentrum des fixierten Gewebes eine Tieferfixierung des Gewebes bei einer Nachfixierung nicht zeigen konnten, gelang es mit Hilfe der Messungen der Fixierungswinkel und γ -Werte (Fixationstiefe im konstanten Abstand vom unfixierten Gewebe) eine Tieferfixierung durch eine Nachfixierungszeit nachzuweisen.

Bei der Abhängigkeit der Fixationstiefe von Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierungszeit sind Unterscheidungen notwendig: Die Abhängigkeit der Fixationstiefe von der Applikationszeit ohne Nachfixierung ist in den ersten beiden Stunden besonders groß. Die Applikationsdicke beeinflusst die Steigung der resultierenden Kurve in geringem Ausmaß, d.h. die erreichte Fixationstiefe ist stärker von der Applikationszeit als von der Applikationsdicke abhängig. Nach dem Zeitpunkt von 2 Std. Applikationszeit ist der Einfluß der Applikationszeit nur mehr sehr gering, wie aus der sehr geringen Steigung der Kurve zu ersehen ist. Das dann erreichte Niveau der Fixationstiefe, das sich nur mehr unwesentlich verändert, ist fast ausschließlich auf die Applikationsdicke zurückzuführen.

Mit zunehmender Dauer der Nachfixierung verschwinden die erkennbaren Einflüsse der Applikationszeit und -dicke auf die Fixationstiefe mehr und mehr. Der Unterschied in der Fixierungstiefe, der bei den Versuchen ohne Nachfixierung noch deutlich ist zwischen 1 und 2 mm Applikationsdicke, wird bereits bei 20 Std. Nachfixierung gering, um bei 72 Std. Nachfixierung fast zu verschwinden. (Abbildung 17,

21/23). Auch der deutliche Anstieg der Fixierungstiefe zwischen den beiden Werten nach 0,5 Std. und 2 Std. wird mit zunehmender Nachfixierung geringer. Somit verdrängt mit zunehmender Nachfixierungszeit diese die Einflüsse der Applikationszeit und -dicke fast völlig. Die Fixierungstiefe nimmt mit steigender Nachfixierung deutlich zu (bis zum Dreifachen der Werte ohne Nachfixierung) (Abbildung 17/21/23). Da diese Werte bis zum Dreifachen höher liegen, ist die Anwendung mit z.B. 72 Std. Nachfixierung klinisch nur in Extremfällen vertretbar.

Die enorme Wirkung des subcutanen Fettgewebes als Schranke bei einer Tiefenfixierung wird durch den Vergleich der Meßergebnisse im Zentrum des fixierten Gewebes mit denen des Fixationswinkels bzw. der Fixierungstiefe y deutlich. Bei den Messungen im Zentrum des fixierten Areals lagen die erreichten Fixationstiefen mit Nachfixierung fast nie über denen ohne Nachfixierung. Die Ergebnisse der Messungen der Fixationswinkel bzw. Fixationstiefe in einem konstanten Abstand (2 mm) vom gesunden Gewebe zeigen jedoch einen Anstieg der Fixationstiefe bei Nachfixierung auf fast das Dreifache (72 Std. Nachfixierung Abbildung 23). Die Hemmwirkung des subcutanen Fettgewebes auf die Wirkung der Zinkchlorid-Paste ist somit als bedeutend zu erachten, während die Hemmung der Wirkung der Zinkchlorid-Paste durch bereits fixiertes Gewebe geringer einzuschätzen ist. Die Hemmwirkung des fixierten Gewebes ist an den Darstellungen über die Fixationstiefe ohne Nachfixierung deutlich. Das fixierte Gewebe, das mit Zinkchlorid-Paste vollgesogen ist, wirkt im Gegen-

satz dazu über die Nachfixierung gleichsam als Speicher, der die Wirkung der Paste verlängert.

3.2. Mikroskopische Untersuchung des fixierten Gewebes

Die mikroskopische Untersuchung der jeweils drei Färbungen mit Hämalaun-Eosin, van Gieson und Elastika zeigt gleichartige Veränderungen: Das nicht fixierte Gewebe um das fixierte Areal herum ist ödematös gequollen. Klinisch manifestiert sich dies durch einen deutlich sichtbaren Schwellungsring um das fixierte Areal herum. Das fixierte Gewebe ist in der Reihenfolge ohne Nachfixierung, 2 Std. Nachfixierung und 20 Std. Nachfixierung immer stärker anfärbbar. Dies zeigt auch die Hämalaun-Eosin-Reihe: ohne, mit 20 Std., 48 Std. und 72 Std. Nachfixierung. Die verstärkte Anfärbbarkeit beruht auf der zur Gewebsnekrose führenden Eigenschaft des Zinkchlorid, die sich mit zunehmender Nachfixierung verstärkt. Die Folge der Gewebsnekrose ist eine Schrumpfung des Gewebes. Sie beruht auf einer Exsiccation der intra- und extracellulären "Flüssigkeitsspeicher" (2). Die histomorphologischen Strukturen bleiben dabei weitgehend erkennbar, jedoch imponiert eine Zerstörung des Muskelgewebes unter dem subcutanen Binde- und Fettgewebe. Diese Art der Zerstörung ist in den Fällen mit 2 mm Applikationsdicke und längerer Nachfixierungszeit zu erkennen. Ob diese Veränderungen der Muskulatur auf den Einfluß des Zinkchlorid oder die in diesen Fällen massiven Leukocytenwanderungen zurückzuführen ist, läßt sich nicht entscheiden. Die massiven

Leukocyteninfiltrationen bilden eine Art Leukocytenwall um das fixierte Gewebe. Nach einer Nachfixierungszeit von 48 bzw. 72 Std. sind diese Infiltrationen deutlich zu erkennen.

3.3. Verbleib des Zink im Körper

Die Untersuchungen über die Fernwirkung des Zink wurden an 49 Tieren durchgeführt. Die Messungen des Zinkgehaltes der einzelnen Proben erfolgte mit dem flammenlosen Atom-Absorption-Spektrometer der Firma Perkin Elmer. Der Zinkgehalt eines jeden Präparates wurde in fünf Messungen bestimmt. Die Ergebnisse wurden durch die statistischen Berechnungen im F-Test und t-Test verifiziert. Außerdem wurden die Histogramme und Mittelwertdiagramme für die einzelnen Organpräparate angefertigt. Der F-Test zeigt, ob die Grundgesamtheiten verschieden sind und der t-Test zeigt eine möglich Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Grundgesamtheiten. Die Messungen des Zinkgehaltes der zu untersuchenden Präparate von Haut, den Defekt schließender Narbe, Leber, Niere, Haare und Blut erfolgte nach einer auf die Applikation folgenden, sechswöchigen Haltungszeit der behandelten Tiere. Die Messungen der Zinkmengen im Harn erfolgten 4, 6 und 24 Std., die im Stuhl 24 Std. nach der Applikation der Zinkchlorid-Paste. Die einzelnen Säulen der Säulendiagramme sind die Mittelwerte aus je 5 Messungen eines Präparates. Die mit ∞ gekennzeichneten Säulen sind die Mittelwerte aus den Zinkmessungen sämtlicher gleichartiger Organpräparate.

Die aus den Vorversuchen gewonnene Eichkurve zur Durchführung der Versuchsmessungen ergab die Formel:

$$y = 3,838x - 0,026x^2$$

3.3.1. Zinkgehalt im Haar

Die Messungen des Zinkgehaltes in den Haaren lassen bereits aus den Histogrammen und Säulendiagrammen für die Mittelwerte eine Signifikanz zwischen den beiden Gruppen Normaltier (NT) und Versuchstier (VT) nicht erwarten.

n = Anzahl der Tiere

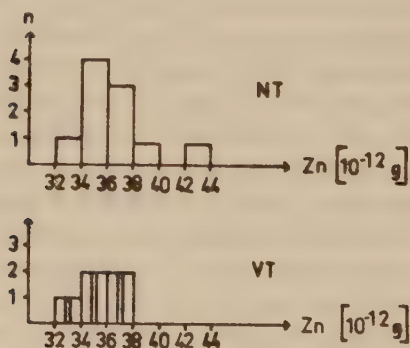


Abb. 24: Histogramme zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Haar beim Normaltier (NT) und Versuchstier (VT) pro Meßprobe 10 µl (2.4./ Tab. 1)

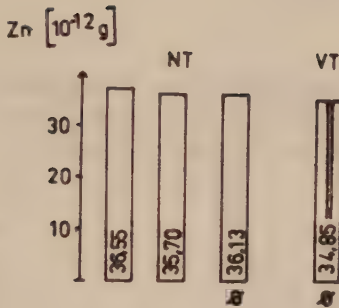


Abb. 25: Säulendiagramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Haar. Zinkmenge in 10^{-12} g pro Meßprobe (10μ l) (2.4./ Tab. 1)

Die Berechnungen zeigen dann auch weder für den F-Test noch für den t-Test eine Signifikanz. Die möglichen Unterschiede im Zinkgehalt der Haare sind daher als zufallsbedingt zu erachten. Eine Ablagerung von Zink in den Haaren kann somit verneint werden.

3.3.2. Zinkgehalt in der Haut

Die Messungen des Zinkgehaltes der Haut wurden an der Haut am Rücken des Normaltieres, die der Applikationsstelle der Zinkchlorid-Paste beim Versuchstier entspricht, durchführt; beim Versuchstier war es der Hautbezirk contralateral zur Applikationsstelle, das fixierte Gewebe selbst, sowie das den Defekt verschließende Narbengewebe.

Der Zinkgehalt des fixierten Gewebes war bei gleicher Behandlung wie die übrigen Hautpräparate auch bei einer 50 mal größeren Verdünnung nicht meßbar, da er über dem möglichen Meßbereich des Gerätes lag. Daher kann von einer Signifikanz gegenüber den anderen Hautpräparaten ausgegangen werden.

Die Histogramme und Mittelwertdiagramme legen bereits den Schluß einer Signifikanz der Werte beim Versuchstier gegenüber dem beim Normaltier nahe.

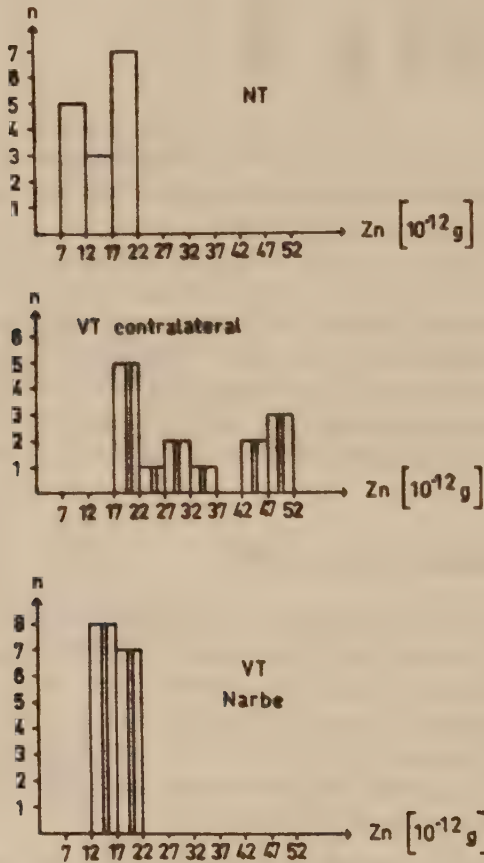


Abb. 26: Histogramme zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt in der Haut pro Meßprobe 10 μ l (2.4./ Tab. 1)
n = Anzahl der Tiere

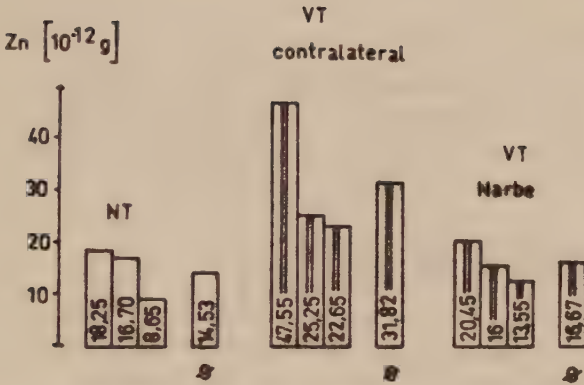


Abb. 27: Säulendiagramme zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt in der Haut. Zinkmenge in 10^{-12} g pro Meßprobe (10μ l) (2.4.) (Tab. 1)

Der Zinkgehalt der contralateralen Haut des Versuchstieres ist signifikant höher als der der Haut des Normaltieres und des Narbengewebes.

Der im t-Test ermittelte signifikant höhere Zinkgehalt im Narbengewebe gegenüber der Haut des Normaltieres resultiert bei gleicher Grundgesamtheit der Proben.

Daher kann eine signifikante Erhöhung des Zinkgehaltes im Narbengewebe gegenüber dem in der Haut des Normaltieres nur mit Einschränkung angenommen werden. Der Nachweis einer Zinkablagerung in der Haut beim Versuchstier kann jedoch als erbracht angesehen werden.

Die Signifikanzberechnungen im F-Test ergab:

contralat. Haut VT * Narbengewebe	0,1% Signifikanz
contralat. Haut VT * Haut NT	0,1% Signifikanz
Haut NT * Narbengewebe	keine Signifikanz

Die Berechnungen im t-Test ergaben:

contralat. Haut VT > Narbengewebe 0,1% Signifikanz
 contralat. Haut VT > Haut NT 0,1% Signifikanz
 Haut NT < Narbengewebe 0,1% Signifikanz

3.3.3. Zinkgehalt in der Leber

Die Mittelwertdiagramme aus den Messungen des Zinkgehaltes in der Leber zeigen überraschend einen geringfügig niedrigeren Zinkgehalt für das Versuchstier gegenüber dem Normaltier. Die Histogramme geben keinen Hinweis auf eventuelle signifikante Unterschiede zwischen den Grundgesamtheiten.

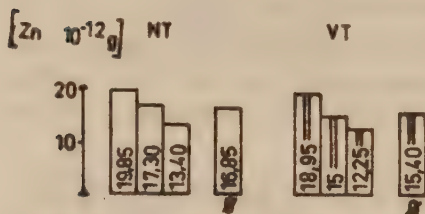


Abb. 28: Säulendiagramme zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt in der Leber. Zinkmenge in 10^{-12} g pro Meßprobe 10μ l (2.4./ Tab. 1)

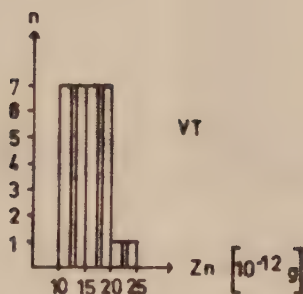
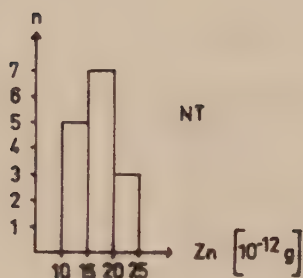


Abb. 29: Histogramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt in der Leber pro Meßprobe $10 \mu\text{l}$ (2.4./ Tab. 1)
 n = Anzahl der Tiere

Die Berechnungen im F-Test und t-Test ergaben für den Zinkgehalt der Leber beim Normaltier (NT) und Versuchstier (VT) keine Signifikanz. Der geringfügige Unterschied zwischen den Mittelwerten kann somit als zufällig gewertet und eine Zinkablagerung in der Leber nicht angenommen werden.

F-Test NT $\neq$ VT keine Signifikanz

t-Test NT $<$ VT keine Signifikanz

3.3.4. Zinkgehalt im Stuhl

Histogramme und Säulendiagramme der Mittelwerte für den Zinkgehalt des Stuhles weisen in die gleiche Richtung wie bei der Leberuntersuchung, nämlich auf das Fehlen signifikanter Unterschiede zwischen den Grundgesamtheiten und den Mittelwerten.

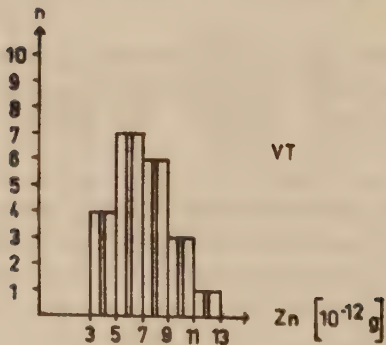
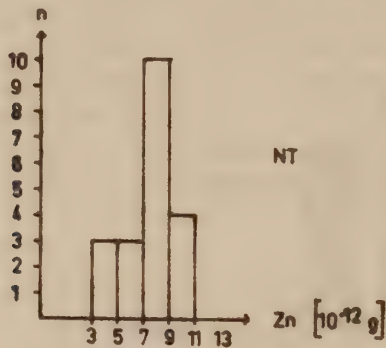


Abb. 30: Histogramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Stuhl pro Meßprobe $10 \mu\text{l}$ (2.4./ Tab. 1)
n = Anzahl der Tiere

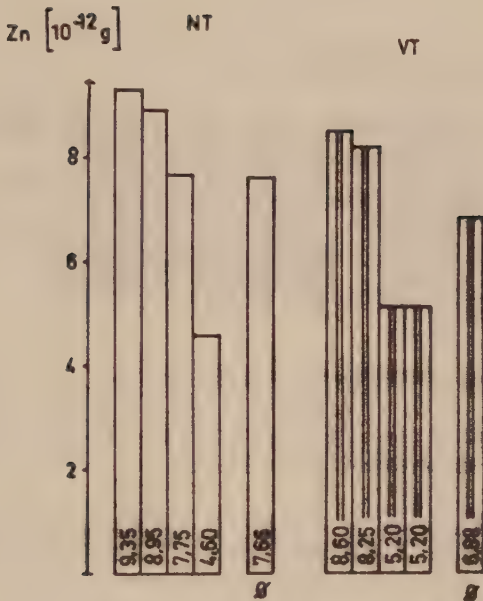


Abb. 31: Säulendiagramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Stuhl. Zinkmengen in 10^{-12} g pro Meßprobe $10 \mu\text{l}$ (2.4./ Tab. 1)

Tatsächlich lassen sich aus den Ergebnissen des F-Testes und t-Testes die geringen Unterschiede im Zinkgehalt des Stuhles zwischen Normaltier und Versuchstier als Zufallsprodukte erklären. Die Berechnungen ergeben nämlich keine Signifikanz.

Dieses Ergebnis bedeutet nicht zwangsläufig, daß Zink in der Leber nicht angereichert wird, sondern schließt lediglich die Ausscheidung des Zink über den Stuhl via Leber - Galle aus.

F-Test NT $\neq$ VT keine Signifikanz
t-Test NT $<$ VT keine Signifikanz

3.3.5. Zinkgehalt in der Niere

Die Messungen des Zinkgehaltes der Niere verlangten eine Differenzierung zwischen dem Nierenmark und der Nierenrinde. Das Säulendiagramm des Mittelwertes für den Zinkgehalt der Niere (Mark und Rinde) ergab beim Versuchstier eine Erhöhung gegenüber dem Normaltier. Auch das Histogramm ist in gleicher Weise zu interpretieren.

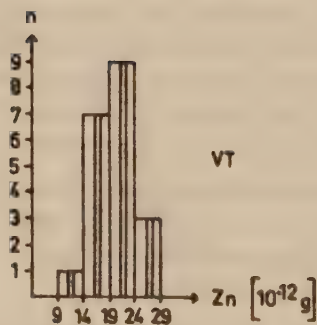
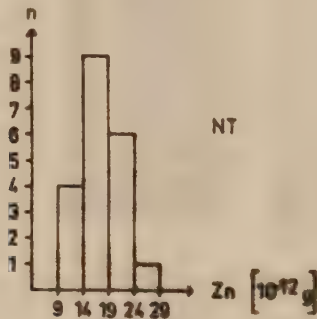


Abb. 32: Histogramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt in der Niere pro Meßprobe $10 \mu\text{l}$ (2.4./ Tab. 1) n = Anzahl der Tiere

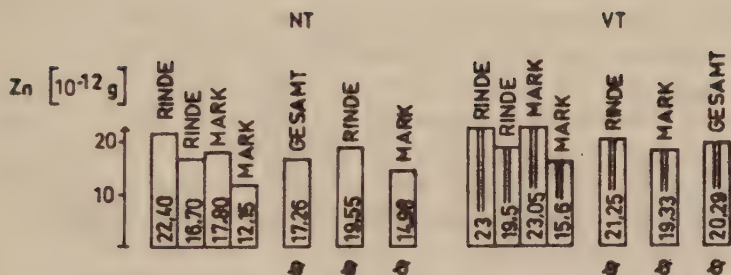


Abb. 33: Säulendiagramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt in der Niere. Zinkmengen in 10^{-12} g pro Meßprobe $10 \mu l$ (2.4./ Tab. 1)

Der F-Test zur Beurteilung eines Unterschiedes der Grundgesamtheiten erbrachte eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % zwischen Normaltier und Versuchstier. Im t-Test ergab sich eine Signifikanz von 0,1 % für die Mittelwertunterschiede des Zinkgehaltes der Niere beim Normaltier gegenüber dem Versuchstier. Die Tatsache einer Zinkablagerung in der Niere - mindestens über dem Zeitraum von 6 Wochen - kann somit als erwiesen betrachtet werden.

F-Test VT $\neq$ NT 5 % Signifikanz

t-Test VT $>$ NT 0,1 % Signifikanz

Der Zinkgehalt der Nierenrinde ist im t-Test beim Normaltier gegenüber dem des Nierenmarkes signifikant höher. Beim Versuchstier ergaben sich im t-Test nur mehr zufallsbedingte Unterschiede. Aus dieser Tatsache folgt, daß beim Versuchstier die Ablagerungen im Wesentlichen im Mark erfolgt. Aus den

obigen Ergebnissen ergibt sich weiter ein signifikant höherer Zinkgehalt im Mark des Versuchstieres gegenüber dem des Normaltieres (t-Test). Da die Unterschiede des Zinkgehaltes laut t-Test in der Rinde zwischen Versuchstier und Normaltier nur zufallsbedingt sind, folgt, daß die Zinkablagerung nur im Nierenmark des Versuchstieres erfolgt. Diese Behauptung kann aufgestellt werden, da auch der F-Test für die entsprechenden Grundgesamtheiten signifikante Unterschiede ergab.

Die Signifikanzberechnungen für die Unterschiede zwischen Nierenrinde und Nierenmark an Normaltier und Versuchstier ergaben folgende Irrtumswahrscheinlichkeiten:

F-Test	NT: Rinde + Mark	1% Signifikanz
	VT: Rinde + Mark	keine Signifikanz
	Mark: VT + NT	5% Signifikanz
	Rinde: VT + NT	keine Signifikanz
t-Test	NT: Rinde > Mark	1% Signifikanz
	VT: Rinde > Mark	keine Signifikanz
	Mark: VT > NT	0,1% Signifikanz
	Rinde: VT > NT	keine Signifikanz

3.3.6. Zinkgehalt im Harn

Die aus den Histogrammen und Mittelwertdiagrammen erkennbar Steigerung des Zinkgehaltes im Harn bei den Versuchstieren ergibt im F-Test und t-Test folgende Ergebnisse:

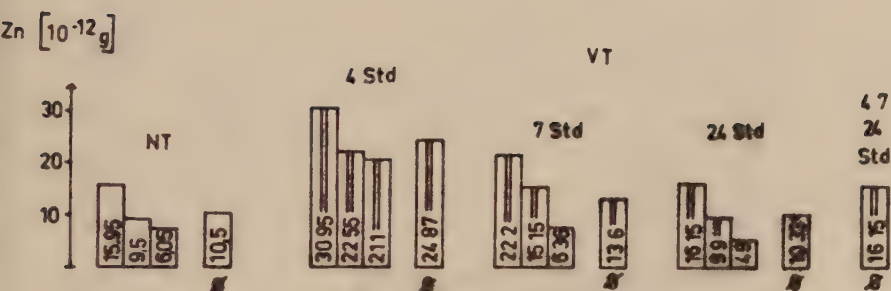


Abb. 34: Säulendiagramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Harn. Zinkmenge in 10^{-12} g pro Meßprobe 10μ l (2.4./Tab. 1)

Eine signifikante Erhöhung des Zinkgehaltes im Harn der Versuchstiere gegenüber dem der Normaltiere ergibt sich im t-Test für die Proben nach einem Zeitraum von 4 Stunden, während die Proben nach 7 Stunden und 24 Stunden keine Signifikanz mehr zeigen. Vergleicht man jedoch im t-Test sämtliche Proben der ersten 24 Std., so ergibt sich gegenüber dem normalen Harn eine signifikante Erhöhung des Zinkgehaltes. Der F-Test erbringt die gleichen Ergebnisse. Den Ausschlag für dieses Ergebnis geben die Proben nach 4 Stunden. Diese Aussage erscheint wichtig, da nicht jeder Harnlaß registriert und aufgefangen werden konnte.

F-Test: NT $\neq$ VT (4,7,24 Std.)	0,1% Signifikanz
NT $\neq$ VT 4 Std.	0,1% Signifikanz
NT $\neq$ VT 7 Std.	keine Signifikanz
NT $\neq$ VT 24 Std.	keine Signifikanz
t-Test: NT $<$ VT (4,7,24 Std.)	5% Signifikanz
NT $<$ VT 4 Std.	0,1% Signifikanz
NT $<$ VT 7 Std.	keine Signifikanz
NT $<$ VT 24 Std.	keine Signifikanz

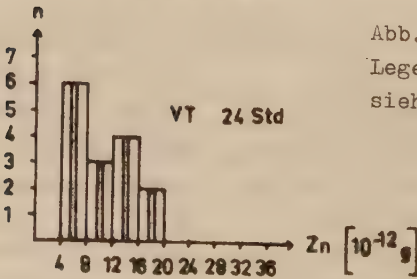
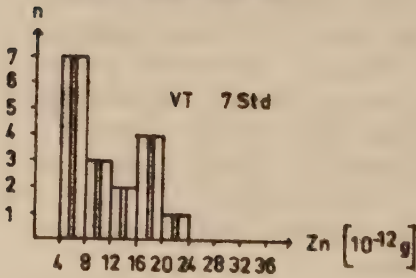
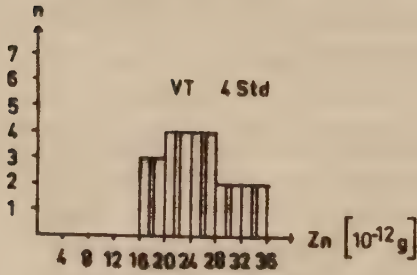
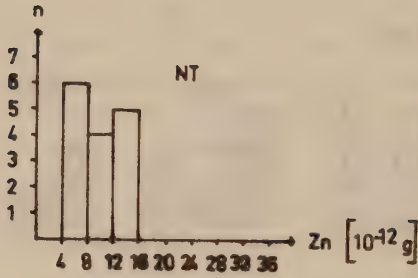


Abb. 35

Legende zu Abb. 35

siehe Seite 59

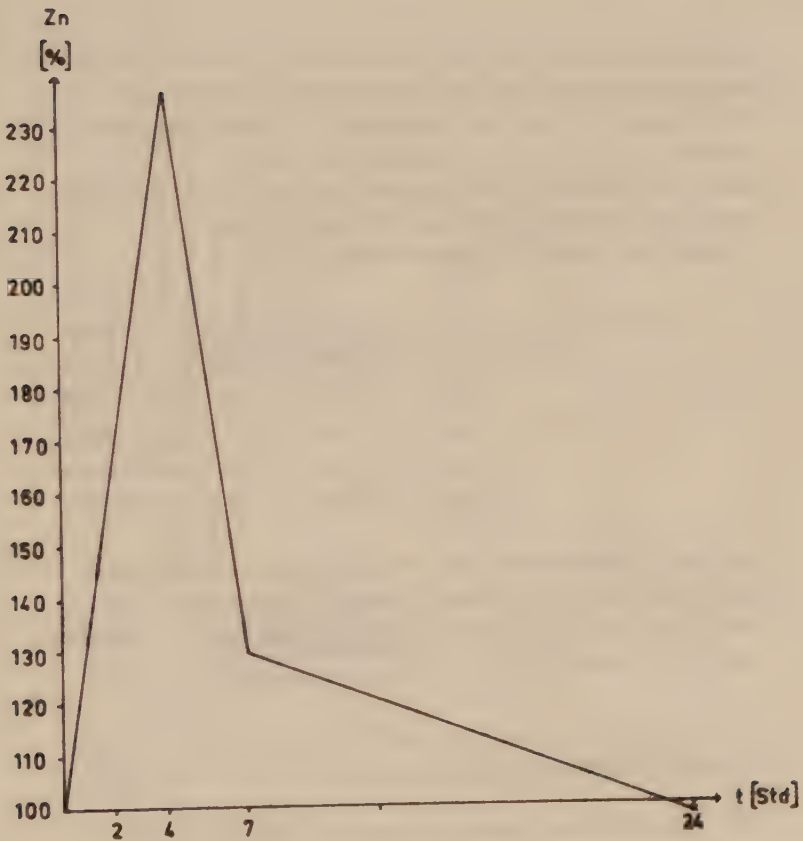


Abb. 36: Zinkgehalt pro Meßprobe $10 \mu\text{l}$ (2.4.)
im Harn nach 4, 7 und 24 Std. in %; Bezugswert
100 % ist der Zinkgehalt des Normaltieres (Tab. 18)

Abb. 35 siehe Seite 58:

Histogramm zu den Meßergebnissen über den Zink-
gehalt im Harn pro Meßprobe $10 \mu\text{l}$ (2.4./ Tab. 1)

Der Ausgangswert ist der Mittelwert aus den Zinkmessungen im Normalharn. Dieser wurde als Basis 100 % gesetzt und der Zinkgehalt im Urin der Versuchstiere dazu in Beziehung gesetzt.

Die Unterschiede des Zinkgehaltes der Versuchstiere nach den einzelnen Zeitabständen stellen sich im F-Test und t-Test folgendermaßen dar:

F-Test VT:	4 Std. + 7 Std.	0,1% Signifikanz
	4 Std. + 24 Std.	0,1% Signifikanz
	7 Std. + 24 Std.	keine Signifikanz
t-Test VT:	4 Std. > 7 Std.	0,1% Signifikanz
	4 Std. > 24 Std.	0,1% Signifikanz
	7 Std. > 24 Std.	0,1% Signifikanz

Aus den Ergebnissen des F-Testes und t-Testes ergibt sich ein signifikant höherer Zinkgehalt für den Harn nach 4 Stunden gegenüber dem nach 7 Stunden und 24 Stunden.

3.3.7. Zinkgehalt im Blut

Für das Blut der Versuchstiere zeichnet sich aus dem Mittelwertdiagramm und dem Histogramm eine signifikante Erhöhung des Zinkgehaltes, sowie ungleiche Grundgesamtheiten.ab.

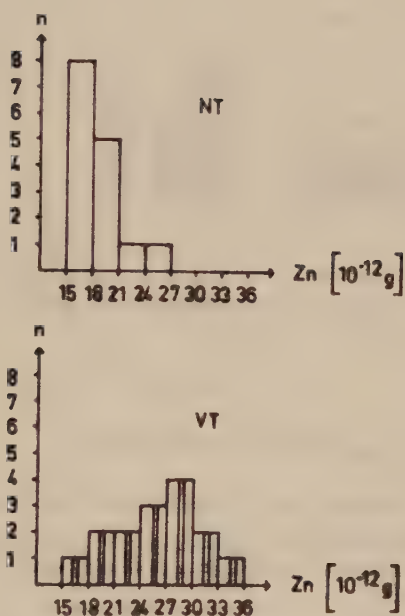


Abb. 37: Histogramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Blut pro Meßprobe $10 \mu l$ (2.4./ Tab. 1)
n = Anzahl der Tiere

Der t-Test und der F-Test bestätigen diese Annahme. Es ergibt sich für beide Berechnungen eine Signifikanz von 0,1 %. Somit ist die Erhöhung des Zinkgehaltes im Blut als gesichert anzunehmen.

t-Test VT > NT	0,1 % Signifikanz
F-Test VT ≠ NT	0,1 % Signifikanz

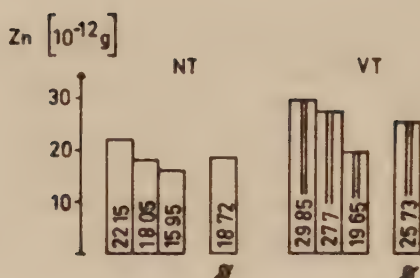


Abb. 38: Säulendiagramm zu den Meßergebnissen über den Zinkgehalt im Blut. Zinkmengen in 10^{-12} g pro Meßprobe $10\mu\text{l}$ (2.4./ Tab. 1)

3.4. Wirkung des Zink auf das Blutbild

Nachdem eine Erhöhung des Zinkgehaltes im Blut nach einem Zeitraum von 6 Wochen nach Applikation der Zinkchlorid-Paste nachgewiesen werden konnte, stellt sich die Frage nach eventuellen Veränderungen im Differentialblutbild bei dem vermehrten Zinkangebot (Applikationsdicke 1,5 mm, Applikationszeit 2 Std.). Die zu diesem Zwecke durchgeführten Leukocytenzählungen ergaben: Die Zahl der Leukocyten stieg in den beiden ersten Stunden stark an, fiel von da an steil bis zum Zeitpunkt nach 6 Stunden wieder ab, um bis 24 Stunden fast wieder den Ausgangswert zu erreichen. Der Ausgangswert von 100 % stellt die Zahl der Leukocyten eines jeden Tieres vor der Applikation der Zinkchlorid-Paste dar. Die später gemessenen Zahlen wurden jeweils im prozentualen Verhältnis ausgedrückt. Das Differentialblutbild bot keinen Anhaltspunkt für eine Linksverschiebung.

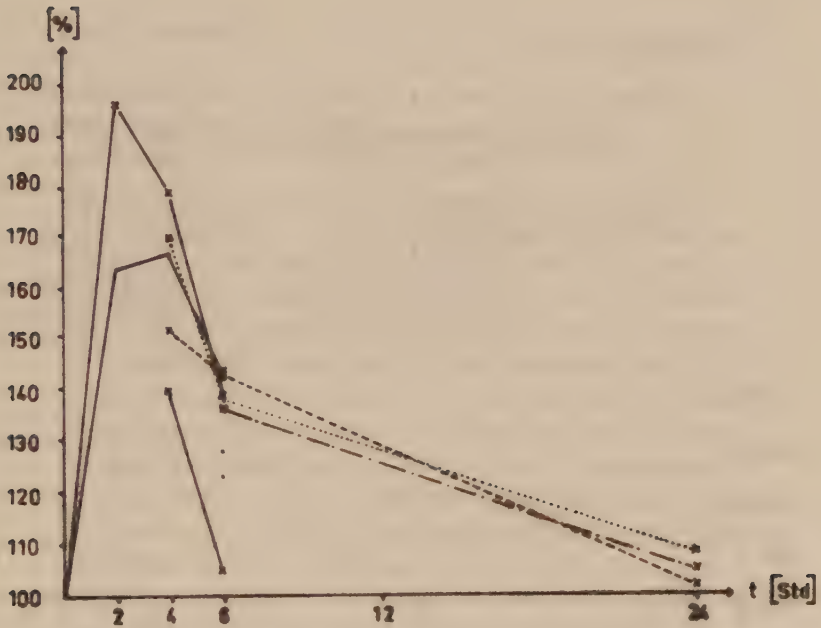


Abb. 39: Leukocytenzahlen in %-Werten. Ausgangsbasis 100 % ist der Wert vor der Behandlung mit Zinkchlorid-Paste. (Tab. 17)

Da die Zahl der Leukocyten nach 4 und 6 Stunden signifikant höher ist als nach 24 Stunden und der F-Test eine Signifikanz von 0,1 % zwischen den Grundgesamtheiten des Normaltieres und des Versuchstieres in den ersten 24 Stunden ergibt, kann man schließen, daß die Zahl der Leukocyten über den gesamten Zeitraum von 24 Stunden signifikant höher ist als beim unbehandelten Tier.

Die Werte zu den einzelnen Zeitpunkten wurden im t-Test und F-Test auf ihre Signifikanz überprüft.

Dabei ergab sich:

t-Test	VT: 4 Std. > 24 Std.	0,1% Signifikanz
	4 Std. > 6 Std.	0,1% Signifikanz
	6 Std. > 24 Std.	1% Signifikanz

F-Test	NT + VT (4,6,24 Std.)	0,1% Signifikanz
	VT: 4 Std. + 24 Std.	0,1% Signifikanz
	4 Std. + 6 Std.	1% Signifikanz
	6 Std. + 24 Std.	1% Signifikanz

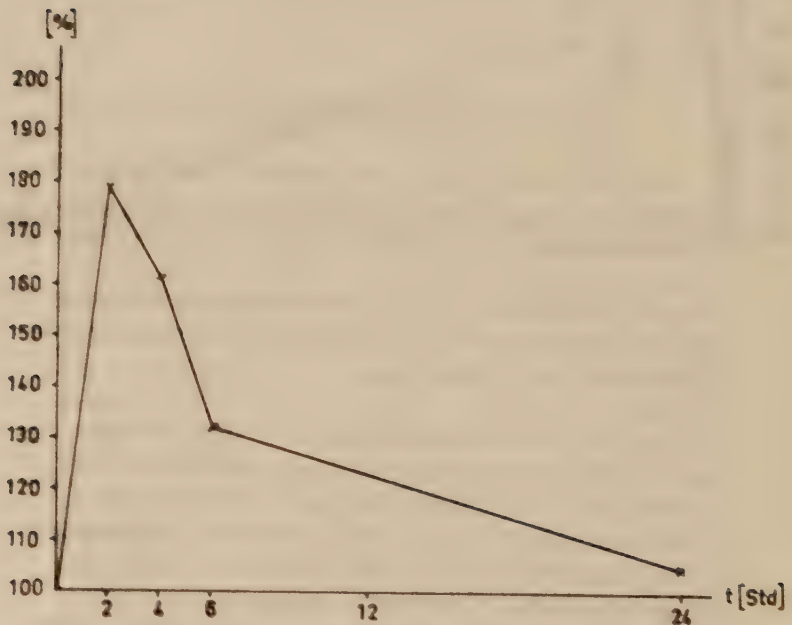


Abb. 40: Leukocytenzahlen in %-Werten. Die einzelnen Punkte der Kurve stellen den Durchschnittswert von den einzelnen Messungen nach gleichen Leiträumen dar. (Tab. 17)

4. DISKUSSION

4.1. Chemochirurgische Behandlungsmethode

Das Ziel bei der Behandlung maligner epithelialer Tumoren besteht in der vollständigen Entfernung des Tumors bei optimaler Schonung des gesunden Gewebes. Neben der chirurgischen Entfernung, Röntgenbestrahlung, Elektroexsiccation und Kurettag (9/10/16/18/19/25/26/27/38) wird gerade die Chemochirurgie in besonderen Fällen dieser Forderung am ehesten gerecht. Spezielle Indikationen für ein chemochirurgisches Vorgehen sind vor allem Basaliomrezidive, primäre Basaliome in ungünstiger Lokalisation und unsicherer klinischer Ausdehnung sowie spinocelluläre Karzinome und Morbus Bowen (3/16). Trotzdem möchten wir eine Ausweitung des Indikationsbereiches der Chemochirurgie auf das maligne Melanom (22) nicht empfehlen, da hier die Methode der Wahl in der großzügigen Excision des Tumors weit im Gesunden besteht.

Die Ergebnisse von ROBINS und MENN (32), die in der folgenden Tabelle auf Seite 65 zusammengefaßt sind, zeigen die Erfolge der chemochirurgischen Behandlung.

Während die Heilungsquote (Tab. Seite 65) bei primären Basaliomen 100 % betrug, konnte bei Basaliomrezidiven eine Heilungsquote von 97,5 % erzielt werden. Eine weitere statistische Untersuchung über das gesamte Patientengut, das MOHS zwischen 1936 und 1965 chemochirurgisch behandelte, weist eine 5-Jahresheilungsquote beim spinocellulären Karzinom der

Lippe (888 Fälle) von 93,7 %, dem der übrigen Haut (1881 Fälle) von 94 % und beim malignen Melanom (80 Fälle) von 46 % aus.

Tabelle: Übersicht über 713 chemochirurgisch behandelte Patienten (32) nach ROBINS und MENN.

	Mittlerer Basaliom- durchmesser	Gesamtzahl chemochirur- gisch behan- delter Basa- liome	Rezidiv- freie Hei- lung	%		Rezidive nach Chemo- chirurgie
Primäre	< 2 cm	62	62	100	-	
Basaliome	> 2 cm	92	92	100	-	
Basaliom- rezidive	< 2 cm	183	182	99,5	1	
	> 2 cm	376	363	96,5	13	
Gesamt		713	699	98,0	14	

Bei der Würdigung dieser Erfolge der Chemochirurgie ist zu berücksichtigen, daß es sich in den beschriebenen Fällen um ein ausgewähltes Patientengut handelt, bei dem andere Behandlungsmethoden nicht zum Erfolg geführt hatten oder aus verschiedenen Gründen nicht zur Anwendung kommen konnten. Ein weiterer nicht zu unterschätzender Vorteil der chemochirurgischen Behandlungsmethode ist die mikroskopische Kontrolle der Excisate. Mit Hilfe dieser mikroskopischen Kontrolle läßt sich ein eventuell klinisch

nicht erkennbares Wachstum des Karzinoms nachweisen und bietet somit die Gewähr, daß alles tumorös veränderte Gewebe entfernt wird.

4.1.1. Verfahren der Chemochirurgie

Das Verfahren der Chemochirurgie erfordert einen großen zeitlichen, technischen und personellen Aufwand. Das Verfahren läuft immer in drei Schritten ab, die gegebenenfalls so oft wiederholt werden bis histologisch nachweisbar das gesamte tumorös veränderte Gewebe entfernt ist:

1. Fixierung des tumorös veränderten Gewebes
2. Excision des fixierten Gewebes
3. histologische Untersuchung des excidierten Gewebes

Ad 1: Da die Hornschicht der Haut das Eindringen des Zinkchlorid in die tieferen Hautschichten sehr erschwert, wird das zu fixierende Hautareal mit 100%iger Dichloressigsäure vorbehandelt. Die dann zu applizierende Zinkchlorid-Menge hängt von der gewünschten Eindringtiefe ab. Die Applikationsdicke schwankt zwischen dem Bruchteil eines mm und einem halben cm. Auch die Fixationsdauer hängt von der gewünschten Eindringtiefe ab und schwankt zwischen 1 und 24 Stunden.

Ad 2: Nach einer bestimmten Applikationsdauer (üblicherweise 3 - 4 Stunden) der Zinkchlorid-Paste wird diese entfernt und das fixierte Gewebe in tangentialer Schnittführung etwa

2 mm dick excidiert. Solange man in fixiertem Gewebe schneidet, erfolgt die Excision unblutig und schmerzlos. Das Excisat wird nun in kleinere Stücke unterteilt und deren Lage zueinander mit Hilfe einer farbigen Flankenmarkierung der Excisate und durch Eintragung der Markierungen in einer Skizze rekonstruierbar vermerkt.

Ad 3: Die markierten Gewebstücke werden nun histologisch untersucht. Dazu fertigt man parallel zur Hautoberfläche von der Unterseite kryostat-schnitte mit Hämalaun-Eosin Färbungen an. Die noch tumorös veränderten Areale werden in den Zeichnungen positiv vermerkt und anhand der Lageskizze werden die entsprechenden Bezirke abermals einer chemochirurgischen Behandlung unterzogen. Die 3 Schritte werden dann solange wiederholt bis kein tumorös verändertes Gewebe im histologischen Präparat mehr zu erkennen ist.

Bei der Excision läßt man eine dünne Schicht des fixierten Gewebes am Grunde stehen. Dieses wird in 3 - 6 Tagen abgestoßen. Das nun freiliegende stark vaskularisierte Granulationsgewebe ist gegenüber Sekundärinfektionen sehr resistent und der Defekt heilt, durch das Jink stimuliert, über eine sekundäre Wundheilung von den Wundrändern her in wenigen Wochen zu.

2.2. Diskussion der eigenen Ergebnisse

2.2.1. Diskussion der Lokalwirkung der Zinkchlorid-Paste

Die Fixierung der Haut an Meerschweinchen ist von den gleichen Einflüssen abhängig wie die Fixierung tumorigen und nicht tumorigen Gewebes beim Patienten (4/16). Die Einflußfaktoren sind:

- die Dichloressigsäure
- die Applikationszeit der Zinkchlorid-Paste
- die Applikationsdicke der Zinkchlorid-Paste
- die Nachfixierungszeit (2.2.2.)

Die Fixierung durch die Zinkchlorid-Paste erfolgt in dem Bereich, in dem die Haut mit Dichloressigsäure vorbehandelt ist. Der Querschnitt des fixierten Gewebes hat in jedem Falle, unabhängig von obigen Faktoren, die Form eines Halbkreises. Aus diesem Grunde sollte bei der chemochirurgischen Behandlung der mit Dichloressigsäure vorbehandelte Bezirk über das klinisch erkennbare, tumoröse veränderte Areal hinaus reichen.

Der Einfluß der Faktoren Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierung erreicht verschiedene Grade und ist von diesen Faktoren abhängig. Er läßt sich am besten an den Ergebnissen der Messungen des Fixationswinkels darstellen.

Die Größe des Fixationswinkels und damit der Fixierungstiefe ist in den Fällen ohne Nachfixierung allein von Applikationszeit und -dicke bestimmt.

Der Winkel nimmt bei zunehmender Applikationsdicke und -zeit bis zu dem Zeitpunkt von 2 Stunden schnell zu. Seine Zunahme über 2 Stunden Applikationszeit hinaus ist - unabhängig von der Applikationsdicke - nur mehr gering. Entscheidend für die maximal erreichbare Fixierungstiefe ist die Applikationsdicke. Eine Applikationszeit länger als 2 Stunden ist somit klinisch nicht angezeigt.

Die Nachfixierungszeit (2.2.2.) vergrößert den Fixationswinkel. Dieser wurde als Maßstab zur Verdeutlichung der Tieferfixierung gewählt (2.3.2.). Der starke Anstieg des Fixationswinkels in den beiden ersten Stunden wird bei 20stündiger Nachfixierung bereits stark gemildert und erreicht bei 72stündiger Nachfixierung nur mehr ein sehr geringes Ausmaß (Abbildung 17); d.h. mit zunehmender Nachfixierungszeit wird das Gewebe auch im Randbereich der Applikationsfläche in größerer Tiefe fixiert und die Form des Querschnittes des fixierten Gewebes verändert sich vom Kugelschnitt in Richtung eines Zylinders. Ebenso wie der Einfluß der Applikationszeit auf den Fixationswinkel - und damit die Fixierungstiefe - durch die Nachfixierung gemindert wird, vermindert sich der Einfluß der Applikationsdicke (Abbildung 17).

Die deutlichen Unterschiede der Fixationswinkel ohne Nachfixierung zwischen 1 und 2 mm Applikationsdicke werden durch eine 20stündige Nachfixierung bereits vermindert und verlieren sich bei 72stündiger Nachfixierung fast völlig. Es ist klinisch also wichtig, daß die Nachfixierungszeit den Einfluß von Applikationsdicke und Applikationszeit überwiegt, d.h. es sind nur geringere Applikationsdicken und Applikationszeiten bei einer Nachfixierung nötig. Des weiteren kann die Ausdehnung der Einkochlorid-App-

likation bei Nachfixierung über den tumorös veränderten Bereich hinaus vermindert werden.

Der Anstieg des Fixationswinkels bei 0,5 Std. Applikationszeit und 72stündiger Nachfixierung gegenüber dem bei 0,5 Std. Applikationszeit ohne Nachfixierung entspricht einer Erhöhung der Fixierungstiefe auf das 2 - 3 fache. Eine Verstärkung der Wirkung der Zinkchlorid-Paste kann also einerseits durch größere Applikationsdicke und Applikationszeiten oder aber durch eine Nachfixierung erzielt werden.

Diese Ergebnisse zeigen zusammen mit denen über die Messungen der Fixierungstiefe im Zentrum des Defektes deutlich die Bedeutung des subcutanen Fettgewebes als Schranke bei der Tiefenfixierung. Aus den Abbildungen 11 und 12 ergibt sich eine Verminderung der Fixierungstiefe mit zunehmender Nachfixierung. Dieses Phänomen wurde bereits früher mit der Schrumpfung des Gewebes und der Hemmwirkung des subcutanen Fettgewebes erklärt. Diese Fettgewebs-Barriere trägt zu der Zunahme des Fixierungswinkels bei Nachfixierung bei, da die Tiefenfixierung im Zentrum des Areals durch das Fettgewebe gestoppt wird, während die Fixierung im Randbereich weiter in die Tiefe geht.

Für die Klinik sollten diese Ergebnisse über die lokale Wirkung der Zinkchlorid-Paste folgendermaßen gedeutet werden:

Die klinische Erfahrung, daß das Zinkchlorid nur in das mit Dichloressigsäure vorbehandelte Gebiet eindringt (4) kann bestätigt werden. Die Angaben über die Applikation der Zinkchlorid-Paste von einem

Bruchteil eines mm bis zu 5 mm sind (3/4) unter folgenden Gesichtspunkten zu betrachten:

Bei diesen Angaben handelt es sich um die Dicke von übereinandergeschichteten, mit Zinkchlorid-Paste bestrichenen Gazestreifen. Eine Applikationsdicke zwischen 0,5 und 2 mm Zinkchlorid-Paste sollte gemäß den Tierversuchen bei der chemochirurgischen Behandlung ausreichen. Eine Applikationsdauer bis 24 Stunden (3) dürfte obigen Ergebnissen zufolge nicht sinnvoll sein, und zudem den Patienten nur unnötig belasten. Eine Applikationszeit über 3 Stunden mit 2 mm Applikationsdicke sollte im Interesse des Patienten vermieden werden, da die Gefahr, die Fettgewebsbarriere zu durchbrechen, zu groß wird. Durch die kürzere Applikationszeit sind auch die Einflüsse einer Verdünnung der Paste durch Exsudation und Austrocknung der Paste (4) zu vermeiden.

Einen wichtigen Faktor bei der Behandlung mit der Zinkchlorid-Paste stellt das Vorhandensein des subcutanen Fettgewebes dar. Bei Fehlen oder nur geringfügiger Ausprägung des subcutanen Fettgewebsspolsters (Augenlid, Ohr, Nase, Kopfhaut), ist um so größere Vorsicht bei der Verwendung der Zinkchlorid-Paste vonnöten. In diesen Fällen sollte nur mit geringen Applikationsdicken und kurzen Applikationszeiten sowie kurzen Nachfixierungszeiten (maximal 24 Stunden) gearbeitet werden. Hierbei sollte dem schrittweisen Tieferfixieren über eine mehrmalige Durchführung der einzelnen Behandlungsschritte gegenüber einer ungenügend steuerbaren und berechenbaren Behandlung mit größerer Applikationsdicke und längeren Applikationszeiten der Vorzug gegeben

werden. Dies ist besonders im Gesichtsbereich - einer der häufigeren Lokalisationen für die Anwendung der chemochirurgischen Methode - zu beachten. Besteht keine Gefahr für tieferliegende empfindliche Organ- oder Gewebsstrukturen wie z.B. das Auge, Tränenkanal oder Knorpel, so kann durchaus am Patienten eine Nachfixierung (~24 Std.) zur Tieferfixierung angewendet werden. Diese hat dann den gleichen Effekt wie übermäßig lange Applikationszeiten der Zinkchlorid-Paste und ist sicher für den Patienten angenehmer. Eine Nachfixierung von 24 Stunden dürfte den Vorteil einer sicher blutlosen Excision mit sich bringen. Eine länger dauernde Nachfixierung von z.B. 72 Stunden bringt jedoch bereits die Gefahr einer Abstoßung des fixierten Gewebes und somit einer schlechter durchführbaren histologischen Untersuchung des Gewebes mit sich.

4.2.2. Diskussion des Verbleibs des Zink im Körper

4.2.2.1. Verbleib des Zink im Haar

Die Messungen des Zinkgehaltes in den Haaren ergaben beim Meerschweinchen nur zufallsbedingt Unterschiede zwischen dem Normaltier und Versuchstier. Somit kann eine Ablagerung in den Haaren und eine Ausscheidung des angebotenen Zink über die Haare ausgeschlossen werden. Dieses Ergebnis widerspricht den Berichten über einen verminderten Zinkgehalt der Haare bei einer Mangelsituation für dieses Metall im Körper (14) nicht. Offensichtlich erfolgt

die Einlagerung des Zink bei vermehrter Zinkgabe nur bis zu einem bestimmten Zinkgehalt.

4.2.2.2. Verbleib des Zink in der Haut

Die Möglichkeit einer Zinkablagerung in der Haut ist bereits aus den Berichten in der Literatur zu erwägen. So berichten MOLOKHIA und PORTNOY (23), daß sie im Gegensatz zu BRAUN-FALCO statt einen erniedrigten, einen erhöhten Zinkgehalt in der Epidermis bei Psoriatikern nachweisen konnten.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen eindeutig auf eine Ablagerung von Zink in der Haut bei vermehrtem Angebot von Zink hin. Ursache hierfür sind möglicherweise die in der Haut besonders häufigen Schwefel-Wasserstoff-Verbindungen (15) oder ein Einbau des Zink in enzymatische Systeme der Haut (35).

Während in der Literatur (11/17) über erhöhten Zinkgehalt im Granulationsgewebe der Wundheilung berichtet wird, konnte ein erhöhter Zinkgehalt in dem, den Defekt deckenden Narbengewebe von uns unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden.

Die Feststellung eines stark erhöhten Zinkgehaltes im fixierten Gewebe, das ja mit der Paste am stärksten angereichert ist, bedarf keiner weiteren Erörterung. Der Hinweis von MOLOKHIA und PORTNOY (23) auf einen signifikant höheren Zinkgehalt der Dermis und Epidermis bei Psoriatikern gegenüber Nicht-psoriatikern unterstützt die Möglichkeit einer denkbaren Zinkausscheidung über die Schuppung der Haut bei erhöhten Zinkangebot im Körper.

4.2.2.3. Verbleib des Zink in der Leber

Die Feststellung nur zufallsbedingter Unterschiede des Zinkgehaltes in der Leber des Normaltieres und Versuchstieres entspricht den Erwartungen, daß Zink in der Leber nicht abgelagert wird (15). Der in einem Nebenversuch festgestellte signifikant erhöhte Zinkgehalt in der Leber jugendlicher Tiere gegenüber dem der älteren Tiere läßt sich mit der verstärkten enzymatischen Tätigkeit des jungen Individuum erklären (15/35/38).

4.2.2.4. Verbleib des Zink im Stuhl

Für die Messungen des Zinkgehaltes im Stuhl der Versuchstiere ergeben sich nur zufallsbedingte Schwankungen gegenüber dem des Normaltieres. Dieses Ergebnis entspricht dem der Leberuntersuchung. Beide Ergebnisse schließen eine Ausscheidung des Zink via Leber-Galle-Stuhl aus. Die Untersuchungsergebnisse von MC CANE und WIDDOWSON (24), die von einem Zinkgehalt im Stuhl entsprechend der aufgenommenen Nahrung beim Menschen berichten, unterstützen unsere Ergebnisse.

4.2.2.5. Verbleib des Zink in der Niere

Die Feststellung einer signifikanten Erhöhung des Zinkgehaltes der Niere des Versuchstieres gegenüber dem des Normaltieres, läßt die Lokalisation des Zink in Mark oder Rinde zunächst offen. Aus den Ergebnissen weiterer Untersuchungen verschiedener An-

teile des Nierenpewebes ergibt sich jedoch die Ansammlung des Zink im Nierenmark. Da eine signifikante Erhöhung des Zinkgehaltes über einen Zeitraum von 6 Wochen gemäß dem allgemeinen Konzentrationsgefälle im Tubulussystem nicht erklärbar ist, sollte auch hier ein Einbau des Zink in Enzyme angenommen werden. Für diese Annahme spricht auch die Feststellung, daß der Zinkgehalt des Harns nach 24 Stunden, über eine zwischenzeitlich starke Erhöhung, bereits wieder den des Normaltieres erreicht hat.

4.2.2.6. Verbleib des Zink im Harn

Die Annahme, daß das gesamte, der Niere angebotene Zink in ihr festgehalten würde, erscheint zweifelhaft und wird durch die Untersuchungsergebnisse widerlegt. Der Zinkgehalt des Harn beim Versuchstier ist - über den gesamten Zeitraum von 24 Stunden betrachtet - signifikant höher als beim Normaltier. Am deutlichsten ist der Unterschied nach 4 Stunden zwischen Normaltier und Versuchstier. Diese Ergebnisse berechtigen zu der Annahme, daß der größte Teil des Zink als harnpflichtige Substanz über die Niere und den Harn ausgeschieden wird.

Über eine unterschiedliche Zinkausscheidung im Harn beim Menschen berichten MC CANE und WIDDOWSON. Sie stellen fest, daß bei Patienten mit normaler Nierenfunktion der Zinkgehalt im Harn selbst bei oraler oder intravenöser Zinkgabe nur geringfügig um den Normalwert schwankt. Andererseits

erhöhte sich der Zinkgehalt im Harn unter den gleichen Zinkgaben bei Patienten mit einer Albuminurie bis zum 7 fachen. Diese Ergebnisse zusammen mit denen unserer Arbeit können die Frage nach einer Nierenschädigung durch percutan resorbiertes Zink nicht beantworten.

4.2.2.7. Verbleib des Zink im Blut

Während der Einbau des Zink in Enzymsysteme des Nierenmarks nur als wahrscheinlich gelten kann, kann dies für das Blut mit größerer Wahrscheinlichkeit angenommen werden (15/17/35). Eine signifikante Erhöhung des Zinkgehaltes wäre beim Blut nach 6 Wochen anders als mit einem Einbau des Zink in die korpuskulären Bestandteile bzw. deren Enzyme nicht erklärbar. Auf entsprechende Untersuchungsergebnisse mit Radioisotopen weist auch HUSSAIN (17) in seinem Bericht hin.

4.2.3. Veränderungen im Blutbild

Der enorme Anstieg der Leukocyten in den ersten 4 bis 6 Stunden läßt eine Parallele zum Zinkgehalt im Harn in den ersten Stunden erkennen.

Die Abbildung 41 mit der graphischen Darstellung der Ergebnisse der Leukocytenzählungen und den Messungen des Zinkgehaltes im Harn zeigt dies deutlich.

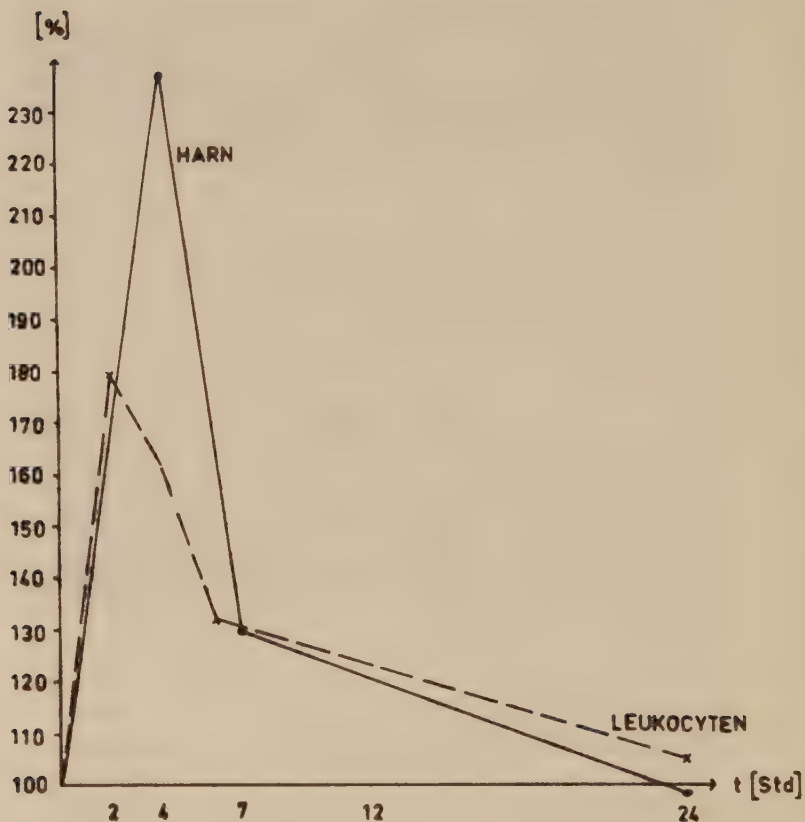


Abb. 41: Leukocytenwerte und Harnwerte in %-Werten. Basis 100 % sind jeweils die Werte des Normaltieres bzw. die Werte vor Versuchsbeginn.
(Tab 17 und 18)

Die beiden Verlaufskurven über die Zahl der Leukocyten im Blut und den Zinkgehalt im Harn sind in den ersten 4 Stunden stark erhöht, fallen bis 7 Stunden steil ab, um dann allmählich nach 24 Stunden wieder die Ausgangswerte zu erreichen. Da eine Linksverschiebung im Blutbild nicht festzustellen war, muß es sich bei dem Anstieg der Leukocyten um eine Freisetzung aus Depots handeln. Verantwortlich hierfür dürfte das - nach der Applikation percutan resorbierte - im Blut als harnpflichtiges Zink vorhandene Zink sein. Der Zinkgehalt im Harn und die Zahl der Leukocyten im Blut sind nach 24 Stunden wieder auf den Normalwert abgefallen, während der Zinkgehalt im Blut noch nach 6 Wochen signifikant erhöht ist, aber offensichtlich keinen Einfluß auf die Zahl der Leukocyten im Blut hat. Ein großer Teil der Leukocyten sammelt sich in Form des deutlich sichtbaren Leukocytenwalles um das fixierte Gewebe an. Diese massive Leukocytenansammlung dürfte auch für die in der Klinik und am Tier beobachtete Resistenz des freiliegenden Granulationsgewebes (3/16) gegenüber Sekundärinfektionen verantwortlich sein.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Chemochirurgie ist eine Methode zur mikroskopisch kontrollierten Excision maligner epithelialer Tumoren bei größtmöglicher Schonung nicht befallenen Gewebes. Die Chemochirurgie wurde von MOHS 1941 entwickelt und besteht aus drei nacheinander ablaufenden Behandlungsstufen:

1. Fixierung des veränderten Gewebes mit Zinkchlorid
2. Excision des fixierten Gewebes mit Markierung und Lageskizze
3. histologische Untersuchung des excidierten Gewebes

Diese drei Behandlungsschritte werden in obiger Reihenfolge sooft wiederholt bis die histologische Kontrolle die Entfernung des gesamten veränderten Gewebes bestätigt.

Spezielle Indikationsbereiche der Chemochirurgie sind: Basaliomrezidive, primäre Basaliome in ungünstiger Lokalisation, mit unsicherer Ausdehnung und bestimmter Größe, in seltenen Fällen auch spinocelluläre Karzinome und Morbus Bowen. Die statistischen Untersuchungen haben gezeigt, daß die 5-Jahresheilungsquote chemochirurgisch behandelter Basaliome über 99 % liegt. Dabei ist zu berücksichtigen, daß es sich in diesen Fällen fast ausschließlich um primäre Basaliome und Basaliomrezidive handelte, bei denen andere Behandlungsmethoden nicht zum Erfolg führten oder aus verschiedenen Gründen nicht angewendet werden konnten.

Ziel dieser Arbeit war es, weitere klinisch wertvolle Anhaltspunkte über die Abhängigkeit der

Fixationstiefe von Applikationsdicke, Applikationszeit und Nachfixierungszeit zu erhalten, sowie die Frage der percutanen Resorption, Ablagerung und Ausscheidung des lokal applizierten Zink zu klären.

Die Untersuchungen dieser Arbeit wurden an insgesamt 81 Meerschweinchen durchgeführt. Zur Überprüfung der lokalen Wirkung der Zinkchlorid-Paste wurde die Tiefe der Gewebefixierung in Abhängigkeit von Applikationsdicke, Applikationszeit und der Nachfixierungszeit bestimmt. Weiterhin wurden zur Beurteilung der histologischen Veränderungen Hämalun-Eosin, van Gieson und Elastikaschnitte des fixierten Gewebes angefertigt. Zur Untersuchung der möglichen Ablagerungen und Ausscheidung des percutan resorbierten Zink wurde der Zinkgehalt im Blut, Stuhl, Harn und verschiedenen Geweben (Haare, Haut, Leber, Niere) der behandelten Tiere gemessen.

Die Untersuchungen über die Abhängigkeit der Fixationstiefe von der Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierung ergaben folgende Ergebnisse:

1. Die Ausdehnung der Fixation im horizontalen Bereich wird durch das mit Dichloressigsäure vorbehandelte Areal begrenzt.
2. Die Form des fixierten Gewebsstückes hat im Querschnitt immer die Form eines Kreisabschnittes.
3. Die Fixationstiefe (ohne Nachfixierung) nimmt in den beiden ersten Stunden schnell zu. Sie erreicht nach etwa 2 Stunden Applikationszeit bereits die maximale Tiefe.

4. Bei der Nachfixierung findet eine Tieferfixierung statt. Sie kann z.B. bei 72stündiger Nachfixierung die 2 bis 3 fache Größe derjenigen ohne Nachfixierung erreichen.
5. Bei der Nachfixierung tritt die Tieferfixierung besonders am Rand des fixiertes Gewebes in Erscheinung, so daß die Kreisabschnittsform in eine mehr zylindrische Form übergeht.
6. Die Tiefenfixierung bei erhöhter Applikationsdicke und längerer Nachfixierungszeit wird durch das subcutane Fettgewebe stark, durch das fixierte Gewebe aber nur gering behindert.
7. Die Vorbehandlung mit Dichloressigsäure sollte wegen der Kreisabschnittsform des fixierten Gewebes immer über den tumorös veränderten Bezirk hinaus ausgedehnt werden.
8. Die Applikationsdauer sollte auf 2 bis 3 Stunden beschränkt bleiben, da bereits zu diesem Zeitpunkt in allen Fällen die maximale Fixierungstiefe erreicht wird.
9. Die maximal erreichbare Fixationstiefe bei 2 Stunden Applikationszeit wird durch die Applikationsdicke bestimmt.
10. Die Schrumpfung des Gewebes nimmt mit fortschreitender Nachfixierung zu.
11. Der Einfluß des subcutanen Fettgewebes muß in jedem Fall berücksichtigt werden. Beim Vorhandensein wirkt es als Schranke bei der Tiefenfixierung, beim Fehlen ist erhöhte Vorsicht wegen des Fehlens dieser Schranke geboten.

12. Zu langes Nachfixieren (z.B. 72 Stunden) gefährdet die histologische Untersuchung, da sich das fixierte Gewebe u.U. bereits losgelöst hat. Als maximale Nachfixierungszeit sollte ein Zeitraum bis zu 24 Stunden gewählt werden.

Als mikroskopische Veränderungen der Behandlung mit der Zinkchlorid-Paste zeigten sich:

1. Um den fixierten Bereich findet sich eine starke Ödemansammlung.
2. Das fixierte Gewebe ist gegenüber der normalen Haut verstärkt eosinophil anfärbbar und zwar je länger die Zinkchlorid-Paste einwirkt, desto stärker.
3. Das Gewebe ist entsprechend der längeren Einwirkungsdauer des Zinkchlorid stärker geschrumpft: Eine Zerstörung der Zellstrukturen konnte nicht festgestellt werden.
4. Die Muskelschicht unter dem subcutanen Fettgewebe ist nach 48 Stunden bzw. 72 Stunden Nachfixierung zerstört.

Die Untersuchungen über den Verbleib des resorbierten Zink, gemessen an den eventuellen Ablagerungen in den unterschiedlichen Organen nach 6 Wochen, zeigte:

1. Die Unterschiede im Zinkgehalt von Leber, Stuhl und vom Narbengewebe, das den Defekt deckt, zwischen Kontrolltieren und Versuchstieren war nicht signifikant.

2. Signifikante Erhöhungen des Zinkgehaltes zwischen Kontrolltieren (= Normaltieren) NT und Versuchstieren VT ergaben sich für die Haut, die Niere, - in Sonderheit das Nierenmark - sowie das Blut.
3. Signifikante Erhöhungen des Zinkgehaltes zwischen Normaltieren und Versuchstieren ergaben sich für den Harn in den ersten 24 Stunden, in Sonderheit in den ersten 4 Stunden.
4. Signifikante Erhöhungen der Leukocytenwerte zwischen Normaltieren und Versuchstieren in den ersten 24 Stunden ergaben die Blutuntersuchungen. Eine Linksverschiebung konnte dagegen nicht beobachtet werden.

Die Fixationstiefe bei der Verwendung der Zinkchlorid-Paste ist von der Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierungszeit abhängig. Die Abhängigkeit der Fixationstiefe von Applikationszeit, Applikationsdicke und Nachfixierungszeit läßt eine längere Applikationszeit als maximal 3 Stunden nicht mehr effizient erscheinen. Bei der klinischen Anwendung sollte sich die Applikationszeit auf maximal 2 Stunden, die Zeit der Nachfixierung auf etwa 24 Stunden beschränken. Auf diese Weise werden die Schmerzen für den Patienten geringer und das psychische Moment der Behandlung erträglicher. Eine 24stündige Nachfixierung ermöglicht eine blutlose Excision des fixierten Gewebes und behindert die histologischen Untersuchungen durch die nur minimale Schrumpfung des Gewebes kaum.

Da die Form des fixierten Gewebes immer wackelförmig ist, sollte die Vorbehandlung mit der Dichloressigsäure und die Applikation der Zinkchlorid-Paste über das klinisch erkennbare tumoröse veränderte Gewebe hinaus reichen.

Besondere Beachtung verdient das subcutane Fettgewebe, das bei Vorhandensein eine wichtige Barriere bei der Tiefenfixierung darstellt und eine größere Applikationsdosis und längere Applikationszeit erlaubt. Beim Fehlen dieser Barriere ist eine entsprechend vorsichtiger Anwendung der Zinkchlorid-Paste wegen der möglichen Schädigung tiefergelegener Strukturen (Knochen, Knorpel, Tränenkanal u.a.) unbedingt angezeigt.

Ein großer Teil des bei der Applikation percutan resorbierten Zink wird bereits in den ersten 24 Std. mit dem Harn wieder ausgeschieden. In dieser Zeit ist parallel zum steilen Anstieg und langsamen Abfall des Zinkgehaltes im Harn ein gleichzeitiger Anstieg und Abfall der Leukozytenwerte im peripheren Blut zu beobachten. Die Fieberzustände und das schlechte Allgemeinbefinden könnte mit dieser Fernwirkung des percutan resorbierten Zink in Zusammenhang stehen. Im Hinblick auf die von MC CANCE und WIDDOWSON beobachtete Erhöhung des Zinkgehaltes im Harn bei einer Albuminurie verdient der von uns beobachtete erhöhte Zinkgehalt in der Niere besondere Beachtung.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten dazu beitragen, das methodische Vorgehen bei der Chemochirurgie zu optimieren und weitere Aufschlüsse über mögliche lokale und systemische Nebenwirkungen des percutan resorbierten Zink zu erhalten.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ANGYAI, A.M.
ARCHER, G.T. : The Zinc Content of Rat
Mast Cells
Aust. J. Exp. Biol. Med.
Sci. 46, 119 - 121 (1968)
- 2 BÜHLMANN, A.A.
FROESCH, E.R. : Pathophysiologie
Springer Verlag Berlin
Heidelberg, New York
(1972)
- 3 BURG, G.
BRAUN-FALCO, O. : Chemochirurgie des Basalioms
Dtsch. Aerztebl. 36,
2303 - 2312 (1973)
- 4 BURG, G.
ROBINS, P. : Chemochirurgie
Hautarzt 23, 16 - 20
(1972)
- 5 BURG, G. : Chemochirurgische Behandlung
Ärztl. Praxis
6 2453 (1972)
- 6 BURG, G.
KONZ, B.
BRAUN-FALCO, O. : Mikroskopisch kontrollierte
Chirurgie (MKC) des Basalioms
Therap.woche 25, 20, 2865
(1975)

- 7 DAWSON, E.J.B. : Direct Determination of Zinc
in Whole Blood, Plasma and
Urine by Atomic Absorption
Spectroscopy
Clinica Clin. Acta 26,
465 - 475 (1969)
- 8 DENNES, E.
TUPPER, R.
WORMALL, A. : The Zinc Content of Erythrocy-
tes and Leukocytes of Blood
from Normal and Leukaemic
Subjects
Biochem. J. (1961) 78,
578 - 587
- 9 EHLERS, G. : Zur Klinik der Basalzell-
Epitheliome unter Berücksich-
tigung statistischer Unter-
suchungen
Zschr. Haut-Geschl.krkh. 41,
226 - 238 (1966)
- 10 GOTTRON, H.A. : Gegenwartsfragen beim Haut-
karzinom
Med. Klin, 99, 1553 - 1560
(1954)
- 11 GRIFFITH, V.
WRIGHT, E.B.
DORMANDY, T.L. : Tissue zinc in malignant
disease
Nature 241, 5384
(1973)

- 12 HALSTED, J.A.
SMITH, J.C. : Plasma-zinc in health
and disease
Lancet, (1970) 2
322 - 324
- 13 HALSTED, J. A.
HACKLEY, B.M.
SMITH, J.C. : Plasma-zinc and copper in
pregnancy and after oral
contraceptives
Lancet 8. 278 - 279
(1968)
- 14 HAMBIDGE, M. : Verursacht Zinkmangel bei
Kindern Wachstumsstörungen ?
Medical Tribune
Bericht vom 9. Internationalen
Congress of Nutrition
Nr. 15,3 (1973)
- 15 HAUCK, G. : persönliche Mitteilungen
- 16 HELM, F.
MILGROM, H.
PHELAN, J.T.
KLEIN, E. : Zur chemochirurgischen Be-
handlung der Hautkarzinome
Derm. Wschr. 150, 451 - 458
(1964)
- 17 HUSSAIN, S.L. : Oral zinc sulfate in leg ulcere
Lancet, 31, 1069 - 1071
(1969)

- 18 KNOTH, W.
LANZ, W. : Geschwulste auf dem Boden
chronischer Ulcerationen
Derm. Wschr. 131,
569 - 578 (1955)
- 19 KREIBIG, W. : Basaliombehandlung
Münch. med. Wschr. 111, 109
(1969, 2)
- 20 MAGAR, M.
MC NARY, W.F.
LIONETTI, F. : The Histochemical Detection
of Zinc
Biochem. J. 36, 692
(1942)
- 21 MOHS, F.E.
GUYER, M.F. : Pre-excisional Fixation of
Tissues in the Treatment of
Cancer Res. 1, 49 - 51
(1941)
- 22 MOHS, F.E. : Chemosurgery in Cancer,
Gangrene and Infections
Thomas, Springfield, Ill.
(1956)
- 23 MOLOKHIA, M.
PORANNOY, B. : Neutron activation analysis
of trace Elements in V Copper
and Zinc Psoriasis
Br. J. Derm. 83, 376
(1970)

- 24 MC CANCE, R.A.
WIDDOWSON, E.M. : The Absorption and Excretion
of Zinc
Biochem. J. 36, 692
(1942)
- 25 NOEDL, F. : Das echte Randrezidiv und
das sukzessive diskontinuier-
liche Randwachstum des Basa-
lioms nach Röntgeneinwirkung
Strahlentherapie 90, 265 - 279
(1953)
- 26 NOEDL, F. : Die Bedeutung des Mesenchyms
für die Wachstumsform und die
Empfindlichkeit des Basalioms
Strahlentherapie 88,
I. Mitt. 206 - 216
II. Mitt. 217 - 227
III. Mitt. 228 - 238
(1952)
- 27 NOEDL, F. : Das Pseudorezidiv nach Rönt-
genbestrahlung
Strahlentherapie 90,
475 - 484 (1953)
- 28 PARKER, M.M.
HUMOLLER, F.L.
MAHLER, D.J. : Determination of Copper and
Zinc in Biological Material
Clin. Chem. 13, 40 - 47
(1967)

- 29 FERKIN.ELMER, Fa. : Analytische Methoden der
flammenlosen Atom-Absorptions-
Spektroskopie mit der Graphit-
rohrküvette HGA 72
Bodenseewerk Perkin Elmer & Co.
GmbH Überlingen
- 30 QUADBECK, G. : Zinkstoffwechsel und
Arteriosklerose
Act. geron. 3, 151 - 154
(1973)
- 31 REAVEN, E.P.
COX, A.J. : The Histochemical Lokali-
sation of Histidine in the
Human Epidermis and its Re-
lationship to Zinc Binding
J. Invest. Derm. 4.
782 - 790 (1963)
- 32 ROBINS, P.
MENN : Chemosurgery in the Treat-
ment of Skin Cancer
Hospital Practice 5, (23)
(1970)
- 33 SCHIRREN, S.G. : Basaliombehandlung
Münch. Wschr. 111,
2455 (1969)
- 34 SCHREUS, H.TH. : Chlorzinkschnellätzung des
Epithelioms
Hautarzt 2. 317 - 319
(1951)

- 35 VAHRENKAMP, H. : Metalle in Lebensprozessen
Chemie in unserer Zeit 4
97 - 105 (1975)
- 36 WITHERS, S.F.D.
BAKER, H.
MUSA, M.
DORMANDY, T.L. : Plasma-zinc in psoriasis
Lancet 8. 278 (1968)
- 37 WOLFF, H.P. : Untersuchungen zu Patho-
physiologie des Zinkstoff-
wechsels
Klin. Wschr. 15/16
409 - 418 (1956)
- 38 ZAUN, H.
GALL, S. : Über den Zinkgehalt der Leu-
kocyten bei malignen Haut-
tumoren und nicht-neoplasti-
schen Hautkrankheiten
Arch. Klin. exp. Derm. 238,
285 - 291 (1970)

Tab.1 Meßergebnisse der Fernwirkung des Zn in $10^{-12} \text{g}/10 \mu\text{l}$
eingespritzte Probe

Normaltier Stuhl:

1. Präp. 7,10,5+10,75+7,75+8,5	= 44,75 : 5 =	8,95
2. Präp. 7,75+6,5+7,5+8,75+8,25	= 38,75 : 5 =	7,75
3. Präp. 10,75+8,5+8,75+8,5+10,25	= 46,75 : 5 =	9,35
4. Präp. 5,25+5,5+3,75+4,25+4,25	= 23,00 : 5 =	4,60

Versuchstier Stuhl:

1. Präp. 9,5+8,75+9+7,5+7,75+7	= 49,50 : 5 =	8,25
2. Präp. 4,75+5,75+5,75+5+4,75	= 26,00 : 5 =	5,20
3. Präp. 4,75+5,25+4,75+5,25+6	= 26,00 : 5 =	5,20
4. Präp. 11,25+9,5+6,5+7,75+8	= 43,00 : 5 =	8,60

Normaltier Harn:

1. Präp 6,5+6,25+5,75+4,75+7	= 30,25 : 5 =	6,05
2. Präp 9+8,75+9,5+10,75+9,5	= 47,50 : 5 =	9,50
3. Präp 16,75+15,5+15,75+10,25+15,5	= 79,75 : 5 =	15,95

Versuchstier Harn nach 4 Std:

1. Präp. 10,5+25,5+21,25+22+25,5	= 112,75 : 5 =	22,55
2. Präp. 22,75+25+17,5+22+18,25	= 105,50 : 5 =	21,10
3. Präp. 31,25+33,5+29+28+33	= 154,75 : 5 =	30,95

Versuchstier Harn nach 7 Std:

1. Präp. 5,75+5,75+5,75+5,75+7,5+7,5+6,5	= 44,50 : 5 =	6,36
2. Präp. 17,25+14,5+15+12,75+16,75	= 75,75 : 5 =	15,15
3. Präp. 20,5+22+21,25+22,75+24,5	= 111,00 : 5 =	22,20

Versuchstier Harn nach 24 Std:

1. Präp. 10,25+11+8+7,75+12,5	= 49,50 : 5 =	9,90
2. Präp. 5,75+4,5+5,5+4,5+4,5	= 24,75 : 5 =	4,95
3. Präp. 15,5+14,75+17,5+17,5+15,5	= 80,75 : 5 =	16,15

Tab.1 Fortsetzung

Normaltier Blut

1.Präp.	20,75+20,75+20,5+26+22,75	= 110,75 : 5 = 22,15
2.Präp.	15,5+15+16,5+15,5+17,25	= 79,75 : 5 = 15,95
3.Präp.	19,5+17,5+17,25+17,5+18,5	= 90,25 : 5 = 18,05

Versuchstier Blut

1.Präp.	28,5+29+25+31,25+35,5	= 149,25 : 5 = 29,85
2.Präp.	16,25+18,5+21,25+19,5+22,75	= 98,25 : 5 = 19,65
3.Präp.	24,5+28,5+25,5+32,5+27,5	= 138,50 : 5 = 27,70

Normaltier Haare

1. Präp.	34,75+34,75+32,5+38,75+42	= 182,75 : 5 = 36,55
2.Präp.	36+35,5+36,75+36+34,25	= 178,50 : 5 = 35,70

Versuchstier Haare

1.Präp.	34,25+34,25+33+36+36,75	= 174,25 : 5 = 34,85
(2.Präp.	24+25+24+24,5+24,5	= 122 : 5 = 24,40)

Normaltier Haut

1.Präp.	17,25+17,25+15,75+16,5+16,75	= 83,5 : 5 = 16,70
2.Präp.	18,5+18+17,5+18+19,25	= 91,25 : 5 = 18,25
3.Präp.	9,58,5+7,75+8+9,5	= 43,25 : 5 = 8,65

Versuchstier Haut contrlateral

1.Präp.	21,5+23,75+32,5+28,5+20	= 126,25 : 5 = 25,25
2.Präp.	51+48,5+46,25+48,5+43,5	= 237,75 : 5 = 47,55
3.Präp.	21,25+23,25+21,25+19,5+28	= 113,25 : 5 = 22,65

Versuchstier Narbe

1.Präp.	20+20,5+20,5+20,75+20,5	= 102,25 : 5 = 20,45
2.Präp.	15+15+12,75+12,5+12,5	= 67,75 : 5 = 13,55
3.Präp.	17,25+14,75+15,75+18+14,25	= 80 : 5 = 16

Tab.1 Fortsetzung

Normaltier Leber

1.Präp.	17,5+18,5+15,75+17,25+17,5	=	86,50	:	5	=	17,30
2.Präp.	13,5+13,75+14,75+12,75+12,25	=	67	:	5	=	13,40
3.Präp.	18,25+20+20,25+22+18,5	=	99,25	:	5	=	19,85

Versuchstier Leber

1.Präp.	18,25+19,5+19,25+20,5+17,5	=	94,75	:	5	=	18,95
2.Präp.	17,5+18+16,5+12,75+10,25	=	75	:	5	=	15
3.Präp.	12,75+11+12,75+11,5+13,5	=	61,25	:	5	=	12,25

Normaltier Leber junges Tier

1.Präp.	32,5+24+33,5+33+39,25	=	162,50	:	5	=	32,50
2.Präp.	37,5+38+38,75+34,25+31,75	=	180,25	:	5	=	36,05
3.Präp.	32,5+28,5+33+31,25+30	=	155,25	:	5	=	31,05

Normaltier Nierenrinde

1.Präp.	16,5+16,25+15,5+18,5+16,75	=	83,50	:	5	=	16,70
2.Präp.	27+20,75+20,75+22,25+21,25	=	112	:	5	=	22,40

Normaltier Nierenmark

1.Präp.	17,5+19+19,25+16,5+16,75	=	89	:	5	=	17,80
2.Präp.	11,25+9,75+16,25+12,5+11	=	60,75	:	5	=	12,15

Versuchstier Nierenrinde

1.Präp.	17,25+19,25+18+24,5+18,5	=	97,50	:	5	=	19,50
2.Präp.	21,5+22,75+20,5+26,5+23,75	=	115	:	5	=	23

Versuchstier Nierenmark

1.Präp.	23,75+26,5+20,5+22,75+22	=	115,25	:	5	=	23,05
2.Präp.	16,75+16,75+14,75+13,5+16,25	=	78	:	5	=	15,60

Tab. 2 Maßzahlen der Fixationswinkel bei 1mm Applikationsdicke

	App.zeit	$\tan \alpha$	$\log -10$	$\tan \alpha$	$\tan \alpha$
ohne Nachfix.	0,50 Std	0,70	9,84 510	34° 59' 40"	125 980"
	1 Std	1,20	0,07 918	50° 11' 40"	180 700"
	2 Std	1,35	0,13 033	53° 28' 10"	192 490"
	4 Std	1,45	0,16 137	55° 24' 30"	199 470"
20 Std Nachfix.	0,50 Std	1,15	0,06 070	48° 59' 30"	176 370"
	1 Std	1,35	0,13 033	53° 28' 10"	192 490"
	2 Std	1,40	0,14 613	54° 27' 45"	196 065"
	4 Std	1,60	0,20 412	57° 59' 40"	208 780"
48 Std Nachfix.	0,25 Std	1,75	0,24 304	60° 15' 20"	216 920"
	0,50 Std	1,90	0,27 875	62° 14' 30"	224 070"
	1 Std	1,90	0,27 875	62° 14' 30"	224 070"
72 Std Nachfix.	0,25 Std	1,95	0,29 003	62° 51'	226 200"
	0,50 Std	1,95	0,29 003	62° 51'	226 260"
	1 Std	1,95	0,29 003	62° 51'	226 260"
	2 Std	2,15	0,33 244	64° 32' 55"	232 375"
	4 Std	2,05	0,31 175	63° 59' 50"	230 390"

Tab.3 Maßzahlen der Fixationswinkel bei 2mm Applikationsdicke

	App.zeit	$\tan \alpha$	$\log -10$	$\tan \alpha$	$\tan \alpha$
ohne Nachfix.	0,50 Std	1,10	0,04 139	47° 43' 35"	171 815'
	1 Std	1,30	0,11 394	52° 25' 50"	188 750'
	2 Std	1,60	0,20 412	57° 59' 40"	208 780"
	4 Std	1,60	0,20 412	57° 59' 40"	208 730'
20 Std Nachfix.	0,50 Std	1,20	0,07 918	50° 11' 40"	180 700'
	1 Std	1,40	0,14 613	54° 27' 45"	196 065'
	2 Std	1,40	0,14 613	54° 27' 45"	196 065'
	4 Std	1,65	0,21 748	58° 46' 55"	211 615'
48 Std Nachfix.	0,25 Std	1,75	0,24 304	60° 15' 20"	216 920'
	0,50 Std	1,75	0,24 304	60° 15' 20"	216 920"
	1 Std	1,80	0,25 527	60° 56' 45"	219 405'
72 Std Nachfix.	0,25 Std	1,90	0,27 875	62° 14' 30"	224 070'
	0,50 Std	2,00	0,30 103	63° 26' 10"	228 370'
	1 Std	2,00	0,30 103	63° 26' 10"	228 370'
	2 Std	2,10	0,32 222	64° 32' 15"	232 335'
	4 Std	2,15	0,33 244	64° 32' 55"	232 375'

Tab. 4 Maßzahlen der Fixationswinkel bei 1mm Applikationsdicke

	App.zeit	Winkelgröße %	Winkelgröße %
ohne Nachfix.	0,50 Std	100,0%	100 %
	1 Std	143,4%	143,4%
	2 Std	152,8%	152,8%
	4 Std	158,3%	158,3%
20 Std Nachfix.	0,50 Std	100 %	140 %
	1 Std	109,1%	152,8%
	2 Std	111,2%	155,6%
	4 Std	118,4%	165,7%
48 Std Nachfix.	0,25 Std	100 %	172,2%
	0,50 Std	103,3%	177,9%
	1 Std	103,3%	177,9%
72 Std Nachfix.	0,25 Std	100 %	179,6%
	0,50 Std	100 %	179,6%
	1 Std	100 %	179,6%
	2 Std	102,7%	184,5%
	4 Std	101,8%	182,9%

Tab. 5 Maßzahlen der Fixationswinkel bei 2mm Applikationsdicke

	App.zeit	Winkelgröße %	Winkelgröße %
ohne Nachfix.	0,50 Std	100 %	100 %
	1 Std	109,9%	109,9%
	2 Std	121,5%	121,5%
	4 Std	121,5%	121,5%
20 Std Nachfix.	0,50 Std	100 %	105,2%
	1 Std	108,5%	114,1%
	2 Std	108,5%	114,1%
	4 Std	117,1%	123,2%
48 Std Nachfix.	0,25 Std	100 %	126,3%
	0,50 Std	100 %	126,3%
	1 Std	101,2%	127,7%
72 Std Nachfix.	0,25 Std	100 %	130,4%
	0,50 Std	101,9%	132,9%
	1 Std	101,9%	132,9%
	2 Std	103,7%	135,2%
	4 Std	103,7%	135,3%

Tab. 6 Maßzahlen der Fixationswinkel bei 1mm und 2mm Applikationsdicke. Winkel nach 0,5 Std App.zeit, 1mm App.dicke, ohne Nachfix als Basis 100 %

	App.zeit	Winkelgröße 1mm [%]	Winkelgröße 2mm [%]
ohne Nachfix.	0,50 Std	100 %	136,4%
	1 Std	143,4%	149,9%
	2 Std	152,8%	165,7%
	4 Std	158,3%	165,7%
20 Std Nachfix.	0,50 Std	140 %	143,4%
	1 Std	152,8%	155,6%
	2 Std	155,6%	155,6%
	4 Std	165,7%	167,9%
48 Std Nachfix.	0,25 Std	172,2%	172,2%
	0,50 Std	177,9%	172,2%
	1 Std	177,9%	174,2%
72 Std Nachfix.	0,25 Std	179,6%	177,9%
	0,50 Std	179,6%	181,3%
	1 Std	179,6%	181,3%
	2 Std	184,5%	184,4%
	4 Std	182,9%	184,5%

Tab. 7 Maßzahlen zu den Versuchen über die Lokalwirkung des ZnCl_2

Vers.tier	App.zeit	App.dicke	Nachfix.	Fixwink.	Fix.tiefe
Nr.	Std.	mm	Std.	y:x	mm
1	0,5	1	--	1,4:2	1
2	0,5	2	--	2,2:2	1,75
3	1	1	--	2,4:2	2,25
4	1	2	--	2,6:2	3
5	2	1	--	2,7:2	2,5
6	2	2	--	3,2:2	3
7	4	1	--	2,9:2	2,25
8	6	2	--		----
9	1	1	3		2,25
10	1	2	3		2
11	0	0	--		----
12	4	2	--	3,4:2	3
13	2	1	2		2,5
14	4	2	--		3
15	1	0,5	--		0,5
16	1	1,5	--		1
17	4	1	20	3,2:2	2
18	4	0,5	20		1,75
19	4	2	20	3,3:2	2,25
20	4	1,5	20		2,25
21	3	1	20		1,75
22	3	0,5	20		1,25
23	3	2	20		2
24	3	1,5	20		1,5
25	2	1	20	2,8:2	1,75

Tab. 7 \ Fortsetzung

Vers.tier	App.zeit	App.dicke	Nachfix.	Fixwinkel	Fixtiefe
Nr.	Std	mm	Std	y:x	mm
26	2	0,5	20		1,25
27	2	2	20	2,8:2	2,25
28	2	1,5	20		2
29	1	1	20	2,7:2	1,5
30	1	0,5	20		1,25
31	1	2	20	2,8:2	2
32	1	1,5	20		1,75
33	0,5	2	20	2,4:2	2
34	0,5	1	20	2,3:2	2
35	4	1	72	4,1:2	1,25
36	4	0,5	72		----
37	4	1,5	72		----
38	4	2	72	4,3:2	1
39	0,5	0,5	72		1,25
40	0,5	1	72	3,9:2	1
41	0,5	1,5	72		1
42	0,5	2	72	4,0:2	1
43	1	0,5	72		1
44	1	1	72	3,9:2	1,25
45	1	1,5	72		1,25
46	1	2	72	4,0:2	1,25
47	0,5	1	48	3,8:2	1
48	0,5	0,5	48		1
49	0,5	2	48	3,5:2	1
50	0,5	1,5	48		1

Tab. 7 Fortsetzung

Vers.tier	App.zeit	App.dicke	Nachfix.	Fixwinkel	Fixtiefe
Nr.	Std	mm	Std	y:x	mm
51	1	0,5	48		1
52	1	1	48	3,8:2	1,25
53	1	1,5	48		1
54	1	2	48	3,6:2	1,5
55	0,25	0,5	72		0,75
56	0,25	1	72	3,9:2	0,75
57	0,25	1,5	72		1
58	0,25	2	72	3,8:2	1,25
59	0,25	0,5	48		----
60	0,25	1	48	3,5:2	1
61	0,25	1,5	48		1,5
62	0,25	2	48	3,5:2	1,5
63	2	1	72	4,3:2	1
64	2	2	72	4,2:2	1

Tab. 8 Ergebnisse der y -Messungen in absoluten (bei 2,5 facher Vergrößerung) und relativen Werten bei 1 mm App.dicke

	App.zeit	y abs.	y rel.
	[Std]	[mm]	[%]
ohne Nachfix.	0,5	1,4	100
	1	2,4	171,4
	2	2,7	192,9
	4	2,9	207,1
20 Std Nachfix.	0,5	2,3	100
	1	2,7	117,4
	2	2,8	121,7
	4	3,2	139,1
48 Std Nachfix.	0,25	3,5	100
	0,5	3,8	108,6
	1	3,8	108,6
72 Std Nachfix.	0,25	3,9	100
	0,5	3,9	100
	1	3,9	100
	2	4,3	110,3
	4	4,1	105,1

Tab. 9 Ergebnisse der γ -Messungen in absoluten (bei 2,5-facher Vergrößerung) und relativen Werten bei 2mm App.dicke

	App.zeit	γ abs.	γ rel.
	[Std]	[mm]	[%]
ohne Nachfix.	0,5	2,2	100
	1	2,6	118,2
	2	3,2	145,5
	4	3,2	145,5
20 Std Nachfix.	0,5	2,4	100
	1	2,8	116,7
	2	2,8	116,7
	4	3,3	137,5
48 Std Nachfix.	0,25	3,5	100
	0,5	3,5	100
	1	3,6	102,9
72 Std Nachfix.	0,25	3,8	100
	0,5	4,0	105,3
	1	4,0	105,3
	2	4,2	110,5
	4	4,3	113,2

Tab. 10 Ergebnisse der y -Messungen in relativen Werten zur Basis
 $y = 1,4$ als 100 % bei 1 mm App.dicke u. $y = 2,2$ als
 100 % bei 2 mm App.dicke

	1 mm App.dicke		2 mm App.dicke	
	App.zeit	y rel.	App.zeit	y rel.
	[Std]	[%]	[Std]	[%]
ohne Nachfix.	0,5	100	0,5	100
	1	171,4	1	118,2
	2	192,9	2	145,5
	4	207,1	4	145,5
20 Std Nfix.	0,5	164,3	0,5	109,1
	1	192,9	1	127,3
	2	200	2	127,3
	4	228,6	4	150
48 Std Nfix.	0,25	250	0,25	159,1
	0,5	271,4	0,5	159,1
	1	271,4	1	163,6
72 Std Nfix.	0,25	278,6	0,25	172,7
	0,5	278,6	0,5	181,8
	1	278,6	1	181,8
	2	307,1	2	190,9
	4	292,9	4	195,5

Tab. 11 Ergebnisse der γ -Messungen in relativen Werten zur Basis $\gamma = 1,4$ als 100 % bei 1mm und 2mm App.dicke

	1 mm App.dicke		2 mm App.dicke	
	App.zeit [Std]	γ rel. [%]	App.zeit [Std]	γ rel. [%]
ohne Nachfix.	0,5	100	0,5	157,1
	1	171,4	1	185,7
	2	192,9	2	228,6
	4	207,1	4	228,6
20 Std Nachfix.	0,5	164,3	0,5	171,4
	1	192,9	1	200
	2	200	2	200
	4	228,6	4	235,7
48 Std Nachfix.	0,25	250	0,25	250
	0,5	271,4	0,5	250
	1	271,4	1	257,1
72 Std Nachfix.	0,25	278,6	0,25	271,4
	0,5	278,6	0,5	285,7
	1	278,6	1	285,7
	2	307,1	2	300
	4	292,9	4	307,1

Tab. 12 Kenngrößen der einzelnen Untersuchungsproben zur
Zn-Gehalt-Bestimmung [1959]

Probe	Standardab- weichung	Varianz	Mittelwert und Standardabweichung
Haare (NT)	2,638	6,960	36,13 $\pm$ 2,638
Haare (VT)	1,505	2,269	34,85 $\pm$ 1,505
Haut (NT)	4,404	19,400	14,53 $\pm$ 4,404
Haut (VT)	12,116	146,790	31,82 $\pm$ 12,116
Narbe (VT)	3,162	10,000	16,67 $\pm$ 3,162
Leber (NT 450 gr)	3,942	15,53	33,20 $\pm$ 3,942
Leber (NT 1000 gr)	2,959	8,76	16,85 $\pm$ 2,959
Leber (VT)	3,535	12,50	15,40 $\pm$ 3,535
Stuhl (NT)	2,188	4,79	7,66 $\pm$ 2,188
Stuhl (VT)	1,928	3,72	6,88 $\pm$ 1,928
Niere (NT)	4,166	17,36	17,26 $\pm$ 4,166
Niere (VT)	3,856	14,87	20,29 $\pm$ 3,856
Niere (VT Rinde)	3,079	9,48	21,25 $\pm$ 3,079
Niere (NT Rinde)	3,561	12,68	19,55 $\pm$ 3,561
Niere (VT Mark)	4,454	19,84	19,33 $\pm$ 4,454
Niere (NT Mark)	3,511	12,34	14,98 $\pm$ 3,511
Harn (NT)	4,301	18,50	10,50 $\pm$ 4,301
Harn (VT)	8,410	70,72	16,15 $\pm$ 8,410
Harn (VT 4 Std.)	5,215	27,20	24,87 $\pm$ 5,215
Harn (VT 7 Std.)	6,957	48,40	13,60 $\pm$ 6,957
Harn (VT 24 Std.)	4,923	24,24	10,33 $\pm$ 4,923
Blut (NT)	3,024	9,15	18,72 $\pm$ 3,024
Blut (VT)	5,430	29,49	25,73 $\pm$ 5,430

Tab. 13 Varianzanalyse

Varianzursache	QS	FG	s ²	F
HÄURE (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	5,423	1	5,423	0,983
Rest	71,716	13	5,517	
Summe	77,139	14		
HAUT (VT-Narbe)				
zwischen d. Stufen	1721,418	1	1721,418	21,952
Rest	2194,990	28	78,393	
Summe	3916,408	29		
HAUT (NT-Narbe)				
zwischen d. Stufen	34,140	1	34,14	2,323
Rest	411,530	28	14,698	
Summe	445,670	29		
HAUT (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	2240,351	1	2240,351	26,962
Rest	2326,640	28	83,094	
Summe	4566,991	29		
LEPER (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	15,771	1	15,771	1,484
Rest	297,600	28	10,629	
Summe	313,371	29		
STUHL (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	6,261	1	6,261	1,476
Rest	165,420	39	4,242	
Summe	171,681	40		

Tab. 13 Varianzanalyse Fortsetzung

Variationsursache	QS	FG	s ²	F
NIERE (VT Rinde-Mark)				
zwischen d. Stufen	18,531	1	18,531	1,264
Rest	263,910	18	14,662	
Summe	282,447	19		
NIERE (NT-Rinde-Mark)				
zwischen d. Stufen	104,662	1	104,662	8,368
Rest	225,120	18	12,507	
Summe	329,782	19		
NIERE(Mark NT-VT)				
zwischen d. Stufen	94,620	1	94,620	5,881
Rest	289,59	18	16,088	
Summe	384,21	19		
NIERE (Rinde NT-VT)				
zwischen d. Stufen	14,46	1	14,46	1,305
Rest	194,44	18	11,08	
Summe	213,90	19		
NIERE (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	91,505	1	91,505	5,680
Rest	612,230	38	16,111	
Summe	703,735	39		
HARN (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	2121,038	3	707,013	23,387
Rest	1753,390	58	30,231	
Summe	3874,428	61		

Tab. 11 Varianzanalyse Fortsetzung

Variationsursache	QS	FG	s ²	F
HARN (VT 7-24 Std)				
zwischen d. Stufen	85,292	1	85,292	2,298
Rest	1113,680	30	37,123	
Summe	1198,872	31		
HARN (VT 4-7 Std)				
zwischen d. Stufen	1011,011	1	1011,011	26,258
Rest	1155,090	30	38,503	
Summe	2166,101	31		
HARN (VT 4-24 Std)				
zwischen d. Stufen	1584,140	1	1584,140	54,626
Rest	720,050	28	25,176	
Summe	2304,190	29		
HARN (NT-VT 24 Std)				
zwischen d. Stufen	0,212	1	0,212	0,100
Rest	598,300	28	21,368	
Summe	598,512	29		
HARN (NT-VT 7 Std)				
zwischen d. Stufen	76,725	1	76,725	2,227
Rest	1033,340	30	34,445	
Summe	1110,065	31		
HARN (NT-VT 4 Std)				
zwischen d. Stufen	1548,012	1	1548,012	67,756
Rest	639,710	28	22,847	
Summe	2187,722	29		

Tab. 13 Varianzanalyse Fortsetzung

Variationsursache	QS	FG	s ²	F
BLUT (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	369,251	1	369,251	19,11
Rest	541,020	28	19,322	
Summe	910,271	29		
LEUKOCYTEN (NT-VT)				
zwischen d. Stufen	6194,325	2	3097,161	19,139
Rest	2103,675	13	161,821	
Summe	8298,000	15		
LEUKOCYTEN (VT 4-6Std)				
zwischen d. Stufen	2646,017	1	2646,017	13,955
Rest	2085,675	11	189,607	
Summe	4731,692	12		
LEUKOCYTEN (VT 6-24 Std)				
zwischen d. Stufen	1575,852	1	1575,852	11,95
Rest	1186,875	9	131,875	
Summe	2762,727	10		
LEUKOCYTEN (VT 4-24 Std)				
zwischen d. Stufen	5922,075	1	5922,075	38,011
Rest	934,800	6	155,800	
Summe	6856,875	7		

Tab. 14 Signifikanzergebnisse des F-Testes über den Unterschied zw. den Grundgesamtheiten der Proben

Probe	errechneter F-Wert	Wert bei 5% Sign.	Wert bei 1% Sign.	Wert bei 0,1% Sig.	errechnete Sign.
NT-VT					
Haare	0,983	4,67	9,07	17,82	keine Sig.
Haut	26,962	4,20	7,64	13,50	0,1% Sig.
Haut VT-					
Narbe	21,952	4,20	7,64	13,50	0,1% Sig.
Haut NT-					
Narbe	2,323	4,20	7,64	13,50	keine Sig.
Leber	1,484	4,20	7,64	13,50	keine Sig.
Leber NT					
450-1000gr	165,150	4,20	7,64	13,50	0,1% Sig.
Stuhl	1,476	4,08	7,31	12,61	keine Sig.
Niere	5,680	4,10	7,35	12,71	5% Sig.
Niere VT-Rinde-					
VT Mark	1,264	4,41	8,29	15,38	keine Sig.
Niere NT Rinde-					
NT Mark	8,368	4,41	8,29	15,38	1% Sig.
Nierenmark	5,881	4,41	8,29	15,38	5% Sig.
Nierenrinde	1,305	4,41	8,29	15,38	keine Sig.
Harn	23,387	2,76	4,13	6,17	0,1% Sig.
Harn NT ¹					
VT 24 Std	0,100	4,20	7,64	13,50	keine Sig.
Harn NT-					
VT 4 Std	67,756	4,20	7,64	13,50	0,1% Sig.
Harn NT-					
VT 7 Std	2,227	4,17	7,56	13,29	keine Sig.

Tab. 14 Fortsetzung

Probe	errechneter F-Wert	Wert bei 5% Sign.	Wert bei 1% Sign.	Wert bei 0,1% Sig.	errechnete Sign.
Harn VT					
4-7 Std	26,258	4,17	7,56	13,29	0,1% Sig.
Harn VT					
7-24 Std	2,298	4,17	7,56	13,29	keine Sig.
Harn VT					
4-24 Std	54,626	4,20	7,64	13,50	0,1% Sig.
Elut	19,110	4,20	7,64	13,50	0,1% Sig.
Leukocyten VT					
4-24 Std	38,011	5,99	13,74	35,51	keine Sig.
Leukocyten VT					
6-24 Std	11,950	5,12	10,56	22,86	1% Sig.
Leukocyten VT					
4-6 Std	13,955	4,84	9,65	19,69	1% Sig.
Leukocyten	19,139	3,81	6,70	12,31	0,1% Sig.

Tab. 15 Signifikanzergebnisse des t-Testes über den Unterschied zw. den Mittelwerten der Proben

Probe	errechneter	Wert bei	Wert bei	Wert bei	errechnete
NT-VT	t-Wert	5% Sign.	1% Sign.	0,1% Sig.	Sign.
Haare	1,008	2,160	3,012	4,221	keine Sig.
Haut	5,195	2,048	2,763	3,674	0,1% Sig.
Haut VT-					
Narbe	4,689	2,048	2,763	3,674	0,1% Sig.
Haut NT-					
Narbe	2,929	2,048	2,763	3,674	5% Sig.
Leber	1,218	2,048	2,763	3,674	keine Sig.
Leber NT					
45C-1000Gr	12,860	2,048	2,763	3,674	0,1% Sig.
Stuhl	1,853	2,021	2,704	3,551	keine Sig.
Niere	2,386	2,021	2,704	3,551	5% Sig.
Niere VT					
Rinde-Mark	1,125	2,101	2,878	3,922	keine Sig.
Niere NT					
Rinde-Mark	2,892	2,101	2,878	3,922	1% Sig.
Nierenmark	2,447	2,101	2,878	3,922	5% Sig.
Nierenrinde	1,142	2,101	2,878	3,922	keine Sig.
Harn	2,490	2,000	2,660	3,460	5% Sig.
Harn					
NT-VT 24 Std	0,101	2,048	2,763	3,674	keine Sig.
Harn					
NT-VT 4 Std	8,24	2,048	2,763	3,674	0,1% Sig.
Harn					
NT-VT 7 Std	1,49	2,042	2,750	3,646	keine Sig.

Tab. 15 Fortsetzung

Probe	errechneter	Wert bei	Wert bei	Wert bei	errechnete
NT-VT	t-Wert	5% Sign.	1% Sign.	0,1% Sig.	Sign.
Harn VT					
4-7 Std	5,127	2,042	2,750	3,646	0,1% Sig.
Harn VT					
7-24 Std	11,079	2,042	2,750	3,646	0,1% Sig.
Harn VT					
4-24 Std	7,855	2,048	2,765	3,674	0,1% Sig.
Blut	4,370	2,048	2,765	3,674	0,1% Sig.
Leukocyten VT					
4-24 Std	6,166	2,447	3,707	5,959	0,1% Sig.
Leukocyten VT					
6-24 Std	3,457	2,202	3,250	4,781	1% Sig.
Leukocyten VT					
4-6 Std	3,736	2,201	3,106	4,437	1% Sig.

Tab. 16 Ergebnisse der Leukocytenzählungen

Nr.	Zahl der L. vor Appl.	Zahl der L. nach 2 Std	Zahl der L. nach 4 Std	Zahl der L. nach 7 Std	Zahl der L. nach 24 Std
1	18 100	--	--	22 300	--
2	19 500	--	--	24 900	--
3	14 700	--	--	20 000	15 500
4	18 600	--	26 000	19 600	--
5	11 500	--	17 500	16 400	11 700
6	21 000	--	35 800	29 100	22 700
7	15 700	25 800	26 000	22 500	--
8	15 100	29 500	26 900	20 900	--
9	21 800	--	--	--	--
10	17 900	--	--	--	--
Ø	17 390	27 650	26 440	21 962,5	16 633,33

Tab. 17 Ergebnisse der Leukocytenzählungen in %-Zahlen

Tier Nr.	Zahl der L. vor Appl.	Zahl der L. nach 2 Std	Zahl der L. nach 4 Std	Zahl der L. nach 6 Std	Zahl der L. nach 24 Std
1	100	--	--	123,204	--
2	100	--	--	127,692	--
3	100	--	--	136,054	105,442
4	100	--	139,785	105,376	--
5	100	--	152,174	142,609	101,739
6	100	--	170,476	138,571	108,095
7	100	164,331	165,605	143,312	--
8	100	195,364	178,146	138,411	--
Ø	100	179,848	161,237	131,904	105,092

Tab. 13 Ergebnisse der Zn-Gehaltmessungen im Harn
in $[10^{-12}\text{g}]$ /Probe

Tier Nr.	vor Appl.	nach 4 Std	nach 7 Std	nach 24 Std
1	6,05	----	----	----
2	9,50	----	----	----
3	15,95	----	----	----
4	----	22,55	----	----
5	----	22,10	----	----
6	----	30,95	----	----
7	----	----	6,36	----
8	----	----	15,15	----
9	----	----	22,20	----
10	----	----	----	9,90
11	----	----	----	4,95
12	----	----	----	16,15
Ø	10,50	24,87	13,60	10,33
[3]	100	236,86	129,52	98,38

Tab. 19 Meßwerte für die Eichkurve

eingespritzte Zn-Menge [6×10^{-12}]	Extinktion des Schreibers [mm]		Blindwert [mm]	Eichwert [mm]
0,5	29+29+38+29	= 125:4	31-25	= 6
1	46+47+50	= 145:3	49-38	= 11
1,5	63+60+62	= 185:3	62-50	= 12
5	49+49+47+54+57	= 256:5	51-25	= 26
10	75+78+75+72+77	= 377:5	76-38	= 38
15	100+100+98+91+90	= 479:5	96-50	= 46
25	119+111+116+107+123+117+			
	115+118	= 926:8	118-29	= 89
40	134+152+126+146+154+147+			
	139+123+129+141	= 1391:10	139-29	= 110
40	144+139+156+148+144+131+			
	150+136	= 1148:8	143-29	= 114
50	151+143+140+143+143	= 720:5	144-25	= 119
67	166+171+158+164+152+159+			
	160+169	= 1298:8	162-29	= 133
80	171+171+177+171+177+166+			
	176+176	= 1385:8	173-29	= 144
Blindwerte				
10 1 HCl	26+27+35+25+19+21+			
	22+24	= 199:8		= 25
20 1 HCl	35+37+36+46+37+39	= 230:6		= 38
30 1 HCl	53+51+52+50+48+47+			
	49+51	= 401:8		= 50
10 1 HCl	28+30+27+24+25+29+			
	31+37+25+33	= 289:10		= 29

Herrn Prof. Dr. O. Braun-Falco danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit. Bei Herrn Dr. Günter Burg und bei Herrn Prof. Dr. G. Hauck möchte ich mich für die hilfreiche Unterstützung bei deren Ausführung bedanken.

LEBENS LAUF

Am 21.2.1948 wurde ich, Anton Herbert Muschler, als zweites Kind und erster Sohn des Bäcker- und Konditormeisters Josef Muschler und seiner Ehefrau Franziska, geb. Strodler, in Augsburg geboren.

Von 1954 bis 1959 besuchte ich die Volksschule in Augsburg und Freising und anschließend das Domgymnasium in Freising, wo ich nach 9 Jahren das Zeugnis der Reife erwarb.

1968 begann ich mein Zahnmedizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und bestand dort im Wintersemester 1974/75 das Staatsexamen mit der Gesamtnote "Sehr gut".

Die Approbation als Zahnarzt erhielt ich am 26. Februar 1975

